

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
КАФЕДРА КЛІНІЧНОЇ ЛАБОРАТОРНОЇ ДІАГНОСТИКИ

КЛІНІЧНА ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА

ЗАГАЛЬНІ ПИТАННЯ ГЕМАТОЛОГІЇ

НАВЧАЛЬНИЙ ПОСІБНИК

для самостійної підготовки

до практичних занять

*студентів-бакалаврів, магістрів та лікарів-інтернів
спеціальності «Технології медичної діагностики та лікування»*

Запоріжжя

2023

УДК 616.15(075.8)

3-14

*Затверджено на засіданні Центральної методичної Ради ЗДМУ
та рекомендовано для використання в освітньому процесі
(протокол № від 2023 р.)*

Колектив авторів:

*С. В. Павлов – д-р біол. наук, професор;
С. А. Біленький – канд. мед. наук, доцент;
Н. В. Бухтіярова – канд. мед. наук, доцент;
Л. В. Баранова – канд. фарм. наук, ст.викл;
К. В. Левченко – канд. мед. наук, асистент;
К. А. Бурлака – асистент;
Д.В. Робота – асистент;*

Рецензенти:

*І. С. Качан - канд. мед. наук, доцент кафедри сімейної медицини, терапії,
кардіології та неврології;
С. І. Свістун - канд. мед. наук, доцент кафедри внутрішніх хвороб №3.*

3-14 **Загальні питання гематології:** навчальний посібник для самостійної підготовки до практичних занять студентів-бакалаврів, магістрів та лікарів-інтернів спеціальності «Технології медичної діагностики та лікування» / С. В. Павлов, С. А. Біленький, Н. В. Бухтіярова [та ін.] ; за заг. ред. С.В. Павлова. – Запоріжжя: ЗДМУ, 2023. – 144 с.

Запропонований навчальний посібник «Загальні питання гематології» є необхідним для вивчення лабораторної діагностики студентами-бакалаврами, магістрами та лікарями-інтернами спеціальності «Технології медичної діагностики та лікування».

Навчальний посібник містить сучасні уявлення про загальні питання гематології в нормі та при патологічних станах. Крім того, навчальний посібник містить тестовий контроль вихідного рівня знань.

Все вище зазначене допоможе студентам при підготовці до практичних занять, підсумкового контролю.

УДК 616.15(075.8)

©Колектив авторів, 2023
©Запорізький державний медичний університет, 2023

ВСТУП

Аналізи крові, їх інтерпретація в плані розуміння реакції організму на той чи інший вплив (хвороби, екологічні фактори) займають одне з провідних місць у клінічній практиці. Значення аналізів крові особливо зростає останнім часом із розвитком нових методів досліджень та отриманням ширшого спектру даних.

Авторський колектив виходив із завдань представлення сучасних результатів досліджень крові насамперед з точки зору практичної клініки та можливості їх використання для діагностики, оцінки тяжкості стану хворого та ефективності терапії, що проводиться.

Навчальний посібник присвячений кровотворенню, патологіям паростків кровотворення, реакціям клітин крові при різних захворюваннях, сучасним методам гематологічного дослідження.

Список скорочень

- СКК – стовбурова кровотворна клітина
- МСН – середній вміст гемоглобіну в еритроциті
- МСНС – середня концентрація гемоглобіну в еритроциті
- МСV – середній об'єм еритроцита
- CD – кластери диференціювання
- GPI – глікозилфосфатидилінозитол
- Hb – гемоглобін
- HCT (hematocrit) – гематокрит
- HLA – лейкоцитарні антигени людини, система тканинної сумісності людини
- Ig – імуноглобулін
- MALT – екстранодальна лімфома маргінальної зони
- MB - макроглобулінемія Вальденстрема
- NK - натуральні (природні) кілери
- PCT – platelet crit – тромбоцит
- PDGF – platelet-derived Growth Factor, фактор росту тромбоцитарний
- PDW – platelet distribution width, ширина гістограми за об'ємом тромбоцитів, ступінь тромбоцитарного анізоцитозу)
- PLT (platelet) тромбоцит
- RBC (red blood cells) – еритроцити
- RDW – ширина розподілу еритроцитів за об'ємом
- RET – ретикулоцит
- TGF – тромбоцитарний фактор зростання
- WBC (white blood cells) – лейкоцити
- AA – апластична анемія
- ВФ – внутрішній фактор Касла
- ЗДА – залізодефіцитна анемія.
- ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота
- КУО-Г – колонієутворювальна одиниця гранулоцитопоезу

КУО-ГМ – колонієутворювальна одиниця грануломоноцитопоезу
КУО-ГЕММ - колонієутворююча одиниця гранулоцитарно-еритроцитарно-макрофагально-мегакаріоцитарна
КУО-Е - колонієутворюючі одиниці еритроїдного ряду
МДС – мієлодиспластичний синдром
МПО – мієлопероксидаза
ЗЗЗС - загальна залізо зв'язувальна здатність сироватки.
ГЛ – гострий лейкоз.
ГЛЛ – гострий лімфобластний лейкоз
ГМЛ - гострий мієлолейкоз.
ХЛЛ – хронічний лімфолейкоз
ХМЛ – хронічний мієлолейкоз
ХММЛ – хронічний мієломоноцитарний лейкоз
ЕДТА – етилендіамінтетраацетат
ЕПО – еритропоетин

СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО КРОВОТВОРЕННЯ

Гемопоез - багатостадійний процес постійного утворення гемопоетичних клітинних клонів в спеціалізованих органах кровотворення. Це збалансована система, що безперервно оновлюється, підпорядкована суворим механізмам регуляції, які спрямовані на підтримку рівноваги між утворенням клітин і їх руйнуванням.

Відмінною рисою гемопоезу є різноманітність як видів клітин, їх функцій, морфології, тривалості життя, так і місця перебування їх в організмі.

Основні принципи кровотворення:

- збереження сталості кількісного та якісного складу клітинних паростків;
- підтримка необхідної клітинної маси кровотворних органів;
- підтримка рівноваги процесів регенерації в кістковому мозку і деградації в тканинах/органах кровотворення по принципу зворотнього зв'язку;
- наявність механізмів регуляції елементів кровотворної системи.

Проліферація, диференціювання і апоптоз - генетично закладені програми, які визначають існування та функціонування клітин крові. Кожен з цих процесів має свої механізми, регулюється певними генами, ростовими факторами, цитокінами, стромальним мікрооточенням. Стромальні клітини секретують велику кількість регулюючих факторів, без яких неможлива проліферація стовбурових кровотворних клітин (СКК), диференціювання і функціонування клітин. Проліферація і диференціювання клітин крові у кістковому мозку відбуваються паралельно. Дозрівання клітини йде безперервно, поступово уповільнюється синтез ДНК аж до його припинення, що робить зрілу диференційовану клітину нездатною до поділу. Проліферативний пул кісткового мозку представлений виключно молодими, здатними до поділу, кровотворними клітинами.

Важливим фізіологічним регулятором гемопоезу є апоптоз. Враховуючи

величезну продукцію клітин крові (близько 5-7 тонн клітин протягом всього життя), для підтримки клітинної рівноваги та підтримки гомеостазу повинен існувати механізм видалення надлишкових, пошкоджених і старих клітин. Цим механізмом є апоптоз. Програма самознищення клітини, яка здійснюється різними зовнішніми і внутрішніми сигналами, врівноважується програмою її блокування. Диференціювання гемопоетичних клітин можливе тільки при умові їх виживання, для чого необхідні антиапоптотичні фактори. Найбільш потужними антиапоптотичними стимулами для нормального кровотворення є ростові фактори. Діапазон їхньої дії досить широкий, починаючи зі стовбурової клітини та закінчуючи зрілими елементами, яким вони забезпечують нормальне функціонування. Будь-які порушення в апоптотичній системі можуть призводити до небажаних наслідків, змінюючи гомеостаз будь-якої клітинної системи, що часто лежить в основі патогенезу різних захворювань.

Структурна організація кісткового мозку, гемопоез.

Структуру кровотворних органів (кістковий мозок, тимус, селезінка, лімфатичні вузли) складають сполучна тканина, паренхіма, судини. Основна маса паренхіми - спеціалізовані клітини, які постійно змінюються у процесі життєвого циклу. Зони активної клітинної проліферації відокремлені від зон диференціювання, у міру дозрівання клітини з одних зон переміщуються до інших. Міграція клітин із кісткового мозку через стінку синусів в периферичну кров має, очевидно, свій виборчий специфічний механізм. Відповідь органів кровотворення, які працюють як один злагоджений механізм, на різні фактори (природний спад клітин, крововтрату, гемоліз, інфекції та інші) може бути як внаслідок зміни кількості клітин, так їх морфології та функції.

У нормальних умовах кровотворні клітини (мієлоїдні й лімфоїдні) оновлюються за рахунок стовбурових кровотворних клітин (СКК), які раніше заселили органи, а також за рахунок попередників які знову в нього надійшли. Від дії місцевих гемопоетичних факторів залежить входження

СКК у мітоз, розміри та кількість колоній, а також вид клітинного потомства, в міру зростання і розвитку організму відбувається заміщення активного кісткового мозку на жировий кістковий мозок.

Еритропоез

Морфологічна та функціональна характеристика клітинних елементів еритроїдного ряду .

Еритропоез - процес утворення і дозрівання еритроїдних клітин у кістковому мозку. Система, що об'єднує самі ранні попередники еритроїдного ряду, морфологічно ідентифіковані проліферуючі та непроліферуючі ядромістки клітини, ретикулоцити та еритроцити позначається терміном - еритрон. У нормі кількість циркулюючих еритроцитів підтримується на постійному рівні. У дорослої людини масою тіла 70 кг у кістковому мозку щодня продукується $20-25 \times 10^{10}$ нових еритроцитів. Така кількість клітин необхідна для підтримання нормального рівня гемоглобіну. Розвиток еритроїдних клітин здійснюється процесами диференціювання та дозрівання.

Початковими клітинами еритропоезу є частково детерміновані мієлоїдні попередники (КУО-ГЕММ). Вони утворюються зі стовбурової поліпотентної клітини, зазнаючи 5-10 поділів. Комітовані монопотентні клітини-попередники, бурстоутворюючі одиниці еритропоезу (БУО-Е), гетерогенні по своєму складу, проходять 11-12 поділів. Їх відмінності визначаються ступенем диференціювання клітин. У цей період 60-65% клітин знаходиться у мітозі. За мірою дозрівання клітин число поділів скорочується. КУО-Е диференціюються в проеритробласти - самі ранні морфологічно ідентифіковані кістковомозкові попередники еритроцитів, здатні до синтезу гемоглобіну. Проеритробласт протягом 3-5 діб піддається подальшому диференціюванню, проходить стадії базофільного, поліхроматофільного й оксифільного еритробласти. На цьому етапі функціонування еритрону клітини проходять до 7 мітотичних поділів. Однак число поділів може скорочуватися, що супроводжується зменшенням кількості еритроцитів,

терміну їх дозрівання та збільшенням розміру клітини. Цей процес називається «перескок поділу». Поліхроматофільний еритробласт - остання клітина еритроїдного ряду, яка ділиться, дозріває в оксифільний еритробласт.

Процес диференціювання еритроїдних клітин характеризується поступовим зменшенням розмірів клітин, ядра, конденсацією хроматину, накопиченням гемоглобіну в цитоплазмі. Ядро оксифільного нормобласта перетворюється на щільну, пікнотичну масу, виштовхується з цитоплазми при проходженні клітини через вузькі ендотеліальні отвори в синусоїдах кісткового мозку. Після видалення ядра з нормобластів утворюються кісткомозкові ретикулоцити, в яких продовжується синтез гемоглобіну ще протягом 3-4 діб. Ретикулоцити дозрівають у кістковому мозку протягом 36-44 годин, після чого надходять у кров, де дозрівають протягом 24-30 годин. Незрілі ретикулоцити мають в собі РНК-місні структури (рибосоми) і не дивлячись на відсутність ДНК, здатні синтезувати гемоглобін, ліпіди, пурини. У мітохондріях синтез АТФ здійснюється за рахунок використання кисню, одночасно в цих клітинах протікає й анаеробний гліколіз. Ретикулоцит має на поверхні ті ж молекули, що і зрілий еритроцит, включаючи глікофорин А, антигени групи крові та системи резус. Завдяки рецепторам до трансферину ретикулоцит абсорбує молекули заліза, густина яких більш виражена у менш зрілих ретикулоцитів. Діаметр ретикулоцитів складає 7,7 - 8,5 мкм. Середній об'єм ретикулоцитів на 24-35% більше еритроцитів (101-128 фл), а концентрація гемоглобіну в них нижча, ніж у зрілому еритроциті, що пояснює появу гіпохромних макроцитів в периферичній крові при станах, що супроводжуються ретикулоцитозом. У процесі дозрівання ретикулоцитів клітина звільняється від рибосом, втрачає мітохондрії, місця зв'язування з трансферином, у результаті синтез гемоглобіну припиняється. Характерною морфологічною особливістю ретикулоцитів є наявність у цитоплазмі зернисто-сітчастої субстанції, що представляє собою залишки рибосом, виявляється при суправітальному методі фарбування. У різних ретикулоцитах вона відрізняється поліморфізм,

чим клітина молодше, тим рясніша субстанція.

Кількість ретикулоцитів відображає швидкість продукції еритроцитів у кістковому мозку, тому їх підрахунок має значення для оцінки ступеня активності еритропоезу. Ліве зрушення ретикулоцитів в бік незрілих клітин на тлі ретикулоцитозу відбувається при активації еритропоезу. Нормальна кількість ретикулоцитів у периферичній крові здорової дорослої людини коливається не більше 0,2-1,2%. Ретикулоцитоз відображає підвищену регенеративну здатність кісткового мозку. Якщо ретикулоцитоз зберігається це може свідчити про те що в організмі продовжується кровотеча. Ретикулоцитопенія - індикатор пригнічення еритропоезу.

Підтримка нормального складу еритрону під контролем різних механізмів, основними з яких є парціальний тиск кисню в тканинах і секреція еритропоетин. Рівень оксигенації тканин залежить від інтенсивності кровотоку, концентрації гемоглобіну, ступеня його насичення киснем та спорідненості гемоглобіну до кисню. Центральна роль в регуляції еритропоезу належить **еритропоетину (ЕПО)**. Зменшення постачання тканин киснем або збільшення потреби в кисні стимулює продукцію ЕПО і навпаки надлишок кисню в тканинах (гіпероксія) пригнічує утворення гормону.

Поняття про ефективний, неефективний і термінальний еритропоез.
Синтез гемоглобіну в еритрокаріоцитах кісткового мозку починається на ранній стадії розвитку еритробласта і закінчується в ретикулоциті зі зникненням останньої рибосоми. Швидкість синтезу гемоглобіну у проеритробластах та базофільних еритробластах складає 0,5 пг в годину в 1 клітині. У клітинах що діляться, після мітозу кількість гемоглобіну зменшується наполовину, протягом інтерфази наближається до вихідного рівня. До кінця другого мітотичного циклу (перед поділом) клітини містять 21,6 пг гемоглобіну, а в дочірніх клітинах, що розділилися, які за своєю морфологією є базофільними еритробластами, 10,8 пг. Наприкінці мітозу кількість гемоглобіну у базофільному еритробласті складає 25,2 пг, а у

ранніх поліхроматофільних еритробластів, що утворилися з нього - 13 пг. Після поділу раннього поліхроматофільного еритробласта утворюються середні поліхроматофільні еритробласти з концентрацією гемоглобіну всередині клітини, яка досягає критичної величини – 13,5 пг. При цьому припиняється синтез ДНК, клітина вимикається з мітотичного циклу, швидкість синтезу гемоглобіну сповільнюється. Подальше дозрівання клітин червоного ряду *відбувається без поділу*.

При *нормальному еритропоезі* еритрокаріоцити проходять у середньому 5 мітозів, в результаті з 1 еритробласта виходить 32 еритроцити з кількістю Hb 27-31 пг.

У невеликій популяції еритроїдних клітин синтез гемоглобіну здійснюється швидше, і на стадії раннього поліхроматофільного еритробласта клітина підходить до мітозу з кількістю гемоглобіну більше ніж 27 пг, при цьому вона втрачає здатність до поділу. Подальший розвиток цієї тетрапоїдної клітини відбувається без поділу. З неї утворюється великий ретикулоцит і потім макроеритроцит, що містить понад 30 пг гемоглобіну. Цей тип поділу еритрокаріоцитів отримав назву *термінального*. У нормі термінальний еритропоез становить трохи більше ніж 5%. Наявність його дає можливість швидко регулювати кількість еритроцитів залежно від різних фізіологічних станів.

Досягши критичної маси гемоглобіну (27 пг) на стадії базофільного еритробласту, 5-10% еритрокаріоцитів гинуть в кістковому мозку, підкоряючись законам апоптоза (неефективний еритропоез). У фізіологічних умовах *неефективний еритропоез* – один із факторів регуляції еритропоезу, підтримки необхідної кількості еритроцитів у крові. Для оцінки величини неефективного еритропоезу може бути використаний цитохімічний метод визначення кількості PAS- позитивних еритрокаріоцитів. У кістковому мозку здорової людини їх число не перевищує 3-8%. Збільшення об'єму неефективного еритропоезу свідчить про накопичення або збільшенні клітин з помилковою диференціувальною або проліферативною програмою. Такі

клітини підлягають елімінації за допомогою фізіологічної загибелі, тому **рівень неефективного еритропоезу відображає інтенсивність апоптозу.**

Імунологія еритроцитів. На мембрані еритроцита є більше ніж 250 еритроцитарних антигенів, які розташовуються подібно мозаїки. Роль антигенів полягає в регуляції диференціювання і дозрівання клітин. Найбільш вивчені антигени систем АВ0 та резус. Еритроцитарні антигени не змінюються протягом життя людини та можуть тисячоліттями зберігатися у трупів при низьких температурах і невизначено довго при висиханні. Системи еритроцитарних антигенів успадковуються зазвичай незалежно один від одного. Наслідувані зміни (мутація) генів призводять до появи алелей. Ген, який визначає групу крові системи АВ0, має три алелі - у вигляді антигенів А, В і відсутність цих антигенів у вигляді третьої форми - 0. Антигени А та В є кодомінантними й домінують над 0-антигеном. Резус-антигени при передачі їх від обох батьків можуть виявлятися в подвійній дозі (гомозиготи) або у простій дозі (гетерозиготи) при передачі від одного з батьків. Наприклад, антигени групи А (II) – у вигляді АА чи А0, резус антигени: СDE/CDE або СDE/cDe. Резус-антигени знаходяться на мембрані еритроцитів незалежно від статі та віку, рівномірно розподіляючись у всіх груп крові. Формування резус антигенів починається з 3-4 місяця внутрішньоутробного розвитку.

Початкові етапи еритропоезу характеризуються появою на мембрані клітин НLА I та II класів, CD34, рецептора до трансферину (CD71), раннього мієлоїдного антигену CD33 і Rh-антигенів, а також невеликою кількістю рецепторів до ЕПО. Більш зрілі попередники – КУО-Е, відрізняються високою чутливістю до ЕПО та експресією максимальної кількості еритроїдних маркерів: рецепторів до ЕПО, специфічного протеїну - глікофору А і рецепторів до трансферину.

Обмін вітамін В₁₂, фолієвої кислоти, порфіринів.

Вітамін В₁₂ - ціанкобаламін, джерелом надходження до організму є тільки продукти тваринного походження: м'ясо, яйця, сир, молоко, особливо

багато його в печінці та нирках. При звичайній дієті людина отримує від 5 до 15 мкг вітаміну B_{12} щоденно, добова потреба від 2 до 5 мкг. Після припинення надходження вітаміну в організм людини анемія розвивається протягом кількох років. У період вагітності, росту та станах, що супроводжуються підвищеним метаболізмом ціанкобаламіну, збільшується добова потреба в вітаміні B_{12} .

Після звільнення від їжі вітамін B_{12} у шлунку зв'язується з R-білком, а потім в клубовій кишці з внутрішнім фактором (ВФ), що виробляється парієтальними клітинами слизової шлунку. Комплекс ВФ- B_{12} всмоктується після специфічного зв'язування з рецепторами клубової кишки. У кровотоці B_{12} переноситься спеціалізованими транспортними білками транскобаламінами (ТК), які доставляють B_{12} в кістковий мозок, печінку, нирки. Для нормального обміну вітаміна B_{12} необхідні наступні фактори: наявність вітаміна в їжі, адекватна шлункова секреція, панкреатична секреція, інтактна клубова кишка, транскобаламіни, що синтезуються печінкою. Дефект одного з цих факторів може призвести до розвитку B_{12} -дефіцитної анемії.

Вітамін B_{12} бере участь в перетворенні метилтетрагідрофолату, що надходить у клітину з крові, в тетрагідрофолат – коферментна форма фолієвої кислоти. Утворені активні фолати необхідні для синтезу пуринових та пірмідінових основ – попередників ДНК та РНК. Дефіцит вітамінів B_{12} та фолієвої кислоти порушує метаболізм нуклеїнових кислот, викликає інгібування клітинного поділу. Ці порушення найбільш виражені з боку гемопоетичних клітин та клітин шлунково-кишкового тракту.

Найчастішою причиною розвитку дефіциту вітаміну B_{12} є атрофічний гастрит, частота і виразність якого збільшується з віком. Істотне значення у розвитку дефіциту вітаміну B_{12} мають генетичні чинники. Сімейна схильність виявляється у 20-30% хворих. У більшості випадків сімейна схильність пов'язана з виробленням аутоантитіл до парієтальних клітин шлунка і внутрішнього фактора. Усі антитіла до внутрішнього фактора

відносяться до IgG.

При дефіциті вітаміна В₁₂ кістковий мозок гіперклітинний внаслідок збільшення кількості еритрокаріоцитів. Співвідношення лейко-/еритро- 1:2 – 1:3 (норма 3:1 – 4:1). Характерний мегалобластичний тип кровотворення з високим рівнем неефективного еритропоезу. Клітини не здатні синтезувати достатню кількість ДНК для клітинного поділу, клітинний цикл сповільнюється. Внаслідок нестачі ДНК для переходу до стадії мітозу кістковий мозок переповнюється клітинами, що створює видимість підвищеного еритропоезу. Під час тривалої фази спокою хроматин дифузно розсіюється на все ядро, надаючи йому мегалобластний вигляд.

У результаті порушення клітинного поділу еритроїдні клітини стають великими (мегалобласти) і якісно змінюється їх структура. Ядра мегалобластів завжди мають характерний ніжносітчастий розподіл хроматину, асинхронне дозрівання ядра та цитоплазми (при вираженій гемоглобінізації ядро зберігає свій незрілий вид).

Фолієва кислота в організмі людини міститься в кількості 5-10 мг; добова потреба становить 50–100 мкг. Запаси її виснажуються через 3-4 місяці після припинення надходження в організм. Фолати синтезуються рослинами та мікроорганізмами. Найбільша кількість фолієвої кислоти міститься в зелені овочах, фруктах, печінці, нирках, дріжджах. Фолієва кислота всмоктується у дванадцятипалій кишці та проксимальному відділі порожнистої кишки. У плазмі крові вона зв'язується з транспортними білками (β₂-макроглобуліном, альбуміном). Основним депо фолатів є печінка, де вона знаходиться в неактивному стані (у вигляді тетрагідрофолієвої кислоти) і переходить в активну форму в міру метаболічних потреб. Фолати, як і вітамін В₁₂, займають ключове становище у багатьох видах клітинного метаболізму, включаючи синтез амінокислот і нуклеїнових кислот, особливо необхідних для проліферуючих клітин. Коензими фолієвої кислоти необхідні для утворення пуринових сполук, біосинтеза метіоніну.

Порфірини - органічні речовини, широко поширені в природі у вигляді комплексів з іонами заліза - гемоглобін і міоглобін.

Основним місцем синтезу порфіринів є еритробласти кісткового мозку і клітини печінки, на основі порфіринів в еритроблестах кісткового мозку синтезується гемоглобін.

Починається синтез гему в мітохондріях з приєднання сукциніл-коферменту-А (CoA) до гліцину, в результаті чого утворюється δ-амінолевулінова кислота (АЛК). Цей процес відбувається за участю ферменту *АЛК-синтетази*, як кофермент якого виступає піридоксаль-5-фосфат (похідне вітаміна В6). Активність ферменту може бути пригнічена хімічними речовинами, зокрема свинцем, алкоголем, знижена глюкозою чи гемом. Закінчується синтез порфіринів включенням двовалентного заліза в протопорфірин. Процес каталізується мітохондріальним ферментом *ферохелатазою (гемсинтетаза)*, в результаті чого утворюється гем.

Ланцюг реакцій синтезу порфіринів регулюється механізмом зворотного зв'язку, де кінцевий продукт гем регулює синтез АЛК на рівні транскрипції та трансляції. Внаслідок дефіциту одного з ферментів синтезу гема розвивається порфірія. При порфіріях через порушення синтезу гема знімається механізм зворотного зв'язку, припиняється інгібування швидкість-лімітуючого ферменту *АЛК-синтетази*, тому при легких формах порфії вдається підтримувати адекватний синтез гему (анемія не розвивається), а відбувається накопичення проміжних продуктів, які водорозчинні та при накопиченні екскретуються із сечею, при цьому сеча набуває рожевий чи червоний відтінок.

Обмін заліза. Залізо є необхідним елементом багатьох білків і ферментів, які беруть участь в ключових процесах метаболізму, росту, проліферації та регенерації клітин, транспорті кисню до тканин, тканинному диханні. Дефіцит заліза наводить до порушення синтезу гемоглобіну і розвитку гіпоксії. Разом з тим залізо може бути виключно токсичним елементом, якщо присутній в організмі в підвищених концентраціях,

перевищують місткість залізовмісних білків. Потенційна токсичність вільного двовалентного заліза (Fe^{2+}) пояснюється його здатністю запускати ланцюгові вільнорадикальні реакції, що приводять до перекисного окислення ліпідів біологічних мембран, утворенню високо реактивних кисневих радикалів, здатних пошкоджувати мембрани клітин, білки, нуклеїнові кислоти та в цілому викликати загибель клітини. Подвійна сутність функцій заліза диктує необхідність формування жорсткою регуляції концентрації заліза в організмі людини.

Системний гомеостаз заліза регулюється на рівні всмоктування заліза в тонкому кишківнику, процес виведення (екскреції) заліза пасивний, нерегульований. У нормі баланс заліза залишається стабільним, та втрати заліза врівноважуються підвищенням доставлення його під час абсорбції. Транспорт і депонування заліза здійснюється спеціальними білками – трансферином, трансфериновим рецептором 1 та феритином. Показники нормального обміну заліза представлені в табл. 1.

Таблиця 1

Лабораторні показники нормального обміну заліза

Сироваткове залізо	Чоловіки: 0,5 – 1,7 г/л (11,6 – 31,3 мкмоль/л) Жінки: 0,4 – 1,6 г/л (9 -30,4 мкмоль/л) Діти: до 2 років 0,4 – 1,0 г/л (7 – 18 мкмоль/л) 7 - 16 років 0,5 - 1,2 г/л (9 – 21,5 мкмоль/л)
Загальна залізов'язуюча Здатність сироватки (ЗЗЗС)	2,6 - 5,0 г/л (46 – 90 мкмоль/л)
Трансферин	Діти (3 міс - 10 років) 2,0 - 3,6 г/л Дорослі 2 – 4 г/л (23 - 45 мкмоль/л) Літні (> 60 років) 1,8 – 3,8 г/л
Насичення трансферину залізом (НТЗ)	15 - 45%
Феритин сироватки крові	Чоловіки: 15 - 200 мкг/л Жінки: 12 - 150 мкг/л Діти: 2 - 5 місяців 50 – 200 мкг/л 0,5 – 16 років 7 - 140 мкг/л

У нормі з їжі всмоктується в тонкому кишківнику 1-2 мг заліза. Обов'язкові добові втрати також складають близько 1-2 мг. Підвищені втрати заліза під час менструації (0,5-1 мг в день) або підвищені потреби у залозі під

час вагітності (близько 500 мг) компенсуються збільшенням всмоктування аліментарного заліза (максимальна здатність всмоктування – 3 мг щодня). Щоденна потреба у залозі перевищує його надходження з їжею і складає близько 20 мг, які в здебільшого витрачаються на синтез гемоглобіну. Вона задовольняється за рахунок реутилізованого заліза, утворюється в макрофагах селезінки та інших органах системи мононуклеарних фагоцитів (СМФ) при фагоцитозі старих або пошкоджених еритроцитів.

Залізо в судинному руслі знаходиться у зв'язку з трансферином. Який синтезується гепатоцитами відповідно до наявності заліза в організм. У відповідь на дефіцит заліза підвищується транскрипція трансферинової мРНК і рівень трансферину в крові збільшується, при зникненні нестачі заліза синтез трансферину знижується. В нормі насичення трансферину залізом складає близько 30%, але може досягати 100% при вираженому навантаженні залізом. У фізіологічних умовах і при дефіциті заліза тільки трансферин здійснює залізотранспортну функцію. Неспецифічне зв'язування заліза з іншими транспортними білками, зокрема альбуміном, спостерігається при перевантаженні залізом. Біологічна функція трансферину полягає в його здатності легко утворювати комплекси що дисоціюють із залізом, що забезпечує утворення нетоксичного пула заліза в кровотоку, який доступний і дозволяє розподіляти й депонувати залізо в організмі. Зв'язуючи залізо, трансферин оберігає клітини від токсичного впливу супероксидних і гідроксильних радикалів, перекису, і від інфекції, позбавляючи деякі мікроорганізми можливості використовувати залізо для підтримки свого метаболізму. Нормальна концентрація трансферину в крові становить 2-4 г/л.

Залізо, зв'язане з трансферином, необхідне всім соматичним клітинам організму людини. Надходження в клітину комплексу Fe^{3+} - трансферин відбувається через специфічні рецептори до трансферину шляхом ендоцитозу. У сформованій везикулі при низьких значеннях рН іони заліза звільняються від трансферину і транспортуються до внутрішньоклітинного лабільного пула заліза, а комплекс апотрансферин- рецептор повертається на

зовнішню поверхню клітини, апотрансферин надходить в плазму крові, а рецептор залишається на мембрані. У еритрокаріоцитах частина Fe^{3+} перетворюється на Fe^{2+} , яке використовується на синтез гемоглобіну. Еритробласт може одночасно приєднати до 100.000 молекул трансферину й отримати 200.000 молекул заліза. Доля Fe^{3+} у клітині неоднозначна: або використовується на синтез залізовмісних ферментів, або відкладається у вигляді феритину. Внутрішньоклітинний вільний пул заліза бере участь в регуляції проліферації клітини, експресії трансферринових рецепторів. Невикористана частина заліза зберігається внутрішньоклітинно в молекулі феритину в нетоксичній формі (Fe^{3+}) і його агрегованої форми гемосидерину. Вони депонують залізо особливо інтенсивно в печінці, селезінці, м'язах, кістковому мозку. Збільшення внутрішньоклітинного лабільного пула заліза призводить до стимуляції синтезу феритину і зниження експресії трансферринових рецепторів.

Певна частина рецепторів до трансферину у вигляді мономерів скидається клітиною в судинне русло, утворюючи розчинні трансферинові рецептори, здатні зв'язувати трансферин. Кількість мембранних рецепторів знаходиться в прямій пропорції з рецепторами, виявленими у плазмі крові. При перевантаженні залізом число клітинних та розчинних рецепторів до трансферину знижується. При сидеропенії, позбавлена заліза, клітина реагує підвищеною експресією трансферринових рецепторів на своїй мембрані, збільшенням розчинних трансферринових рецепторів в плазмі крові та зниженням кількості внутрішньоклітинного феритину. Чим вище густина експресії трансферринових рецепторів, тим виразніше проліферативна активність клітини. Таким чином, експресія рецепторів трансферину залежить від двох факторів - кількості депонованого заліза в складі феритину і проліферативної активності клітини. Розчинні трансферинові рецептори є чутливим індикатором, як активності еритропоезу, так і дефіцит заліза.

Феритин, що циркулює в крові, практично не бере участь в депонуванні заліза, однак концентрація феритину в сироватці в фізіологічних умовах

прямо корелює з кількістю депонованого заліза в організм. При дефіциті заліза, яке не супроводжується іншими захворюваннями, також як при первинному або вторинному навантаженні залізом показники феритину в сироватці дають досить точне уявлення про кількість заліза в організмі. Тому у клінічній діагностиці концентрація феритину має використовуватися насамперед як параметр, що оцінює депоноване залізо. На відміну від феритину гемосидерин не розчинний у воді, тому залізо гемосидерину дуже важко підлягає мобілізації й практично не використовується організмом.

У регуляції обміну заліза велике значення має пептидний гормон гепсидин. Цей гормон, синтезується переважно в печінці. Гепсидин інгібує всмоктування заліза в кишечнику, блокує транспорт заліза через плаценту, блокує вихід заліза з макрофагів, має як антибактеріальну активність, так і протигрибкову активність. Коли запаси заліза адекватні або високі, гепсидин що синтезується у печінці циркулює в тонкому кишечнику і призводить до блокади єдиного шляху транспорту заліза з ентероциту в плазму. При зниженні запасів заліза продукція гепсидину пригнічується підвищується вихід заліза з макрофагів в плазму і зв'язування його з трансферином. При запальних захворюваннях, що супроводжуються високою продукцією гепсидину, блокується вихід заліза з макрофагів, що пояснює присутність макрофагів, перевантажених залізом. Знижена секреція гепсидину відбуватися при залізодефіцитній анемії (ЗДА), гіпоксії, неефективному еритропоезі.

Анемії, що характеризуються перевантаженням заліза, супроводжуються неефективним еритропоезом та підвищенням всмоктування заліза в тонкому кишечнику. Найчастіше така анемія реєструється при таласеміях. Парадоксальна ситуація виникає із синтезом гепсидину при таласемії. У цих хворих концентрація гепсидину в сечі низька, всупереч високому вмісту феритину в сироватці крові. Інгібіцію гепсидину розглядають як недоцільний фізіологічну відповідь, яка призводить до погіршення навантаження залізом в тканинах. Даний факт інтерпретується впливом анемії на синтез гепсидину,

асоційованої з підвищеним чи неефективним еритропоезом. Низький рівень гепсидину при спадкових анеміях може бути одним із факторів, що призводять до гіперабсорбції заліза, перенавантаженню та пошкодженню тканин, розвитку фіброзу.

Згідно з сучасними уявленнями найбільш адекватними тестами для оцінки метаболізму заліза в організмі є визначення концентрації заліза, трансферину, феритину в сироватці крові, насичення трансферину залізом, гепсидину, змісту розчинних трансферинових рецепторів в сироватці крові.

Обмін гемоглобіну. Гемоглобін (Hb) - дихальний пігмент, складний білок – хромопротеїд. Його небілкова частина (простетична група), що включає залізо, називається гемом, білковий компонент - глобіном. На глобін припадає 96% сухої ваги Hb, на частку гема – 4%. Молекула Hb має 4 гема. Завдяки присутності у складі гема іона заліза гемоглобін переносить кисень від легеневих альвеол до тканин. Синтез гемоглобіну починається на самій ранній стадії розвитку еритроїдних елементів. При його порушенні вміст Hb в еритроциті знижується, осередки цитоскелета залишаються незаповненими гемоглобіном, що проявляється гіпохромією еритроцитів в мазках крові, та підвищенням в них концентрації невикористаного на синтез порфірину. У еритроцитах дорослих людей 95-98% припадає на Hb A (adult – дорослий), 2-3% – на Hb A2, 1-2% – на HbF (fetus – плід). Гемоглобін F у новонароджених становить 70-90%, але до кінця першого року його кількість різко знижується. HbF може бути присутнім не у всіх еритроцитах.

За вмістом у крові дорослої людини >1% виділяють кілька похідних гемоглобіну:

- оксигемоглобін (HbO₂);
- відновлений гемоглобін або дезоксигемоглобін (HbH);
- фетальний гемоглобін (HbF зі своїми власними похідними);
- карбоксигемоглобін (HbCO);
- сульфгемоглобін (HbS);
- метгемоглобін (HbMet) або геміглобін (Hi).

Як в оксигемоглобіні, так і у відновленому гемоглобіні або

карбоксигемоглобіні, сульфгемоглобіні залізо знаходиться в закисленій двовалентній формі (Fe^{+2}). При окисленні в метгемоглобін залізо переходить в тривалентну окислену форму (Fe^{+3}), в цій формі гемоглобін не здатний взаємодіяти з киснем. У крові гемоглобін існує частіше всього в п'яти основних формах: оксигемоглобін, дезоксигемоглобін, карбоксигемоглобін, метгемоглобін і сульфгемоглобін. Карбоксигемоглобін, метгемоглобін та сульфгемоглобін не беруть участь в перенесенні кисню, тому їх називають дисгемоглобінами.

Підвищення концентрації гемоглобіну спостерігається при реактивних та пухлинних еритроцитозах, зневодненні.

Зниження концентрації гемоглобіну має місце при анеміях, гіпергідратації. В залежності від концентрації гемоглобіну виділяють три ступені тяжкості анемії: легку ($\text{Hb} >90$ г/л), середню ($\text{Hb} 70-90$ г/л), важку ($\text{Hb} <70$ г/л).

Обмін жовчних пігментів. При розпаді гемоглобіну в селезінці та в купферівських клітинах печінки утворюється білірубін. У плазмі крові білірубін зв'язаний з альбуміном, це некон'югований (незв'язаний) білірубін, він нерозчинний у воді. У печінці білірубін відокремлюється від альбуміну і в гепатоцитах піддається ензиматичній кон'югації з глюкуроновою кислотою, перетворюючись на кон'югований (зв'язаний) білірубін. Кон'югований білірубін водорозчинний, він надходить з жовчю в жовчний міхур, де частково відновлюється в мезобілірубін і в і-уробіліноген та надходить через загальний жовчний проток у дванадцятипалу кишку. У товстій кишці під впливом нормальної кишкової флори деривати білірубіну відновлюються до безбарвного стеркобіліногену. У дистальному відділі товстої кишки основна кількість стеркобіліногену окислюється в стеркобілін, який фарбує калові маси в різні відтінки коричневого кольору. Незначна частина стеркобіліногену всмоктується слизовою оболонкою товстої кишки та через гемороїдальні вени потрапляє в кров, по нижній порожнистій вені надходить у нирки та фільтрується через нирковий фільтр в сечу.

Гранулоцитопоез

Диференціювання та дозрівання клітин гранулоцитопоезу відбувається в кістковому мозку, де з морфологічно неідентифікованих клітин-попередників - КУО-ГМ (колонієутворююча одиниця грануломоноцитопоезу) і КУО-Г (колонієутворююча одиниця гранулоцитопоеза) формується пул проліферуючих гранулоцитів, що складається з мієлобластів, промієлоцитів та мієлоцитів. Проліферація та дозрівання цих клітин приводить до утворення дозріваючих клітин - метамієлоцитів, паличкоядерних та сегментоядерних гранулоцитів. Процес дозрівання супроводжується зміною морфології клітин: зменшенням ядра, конденсацією хроматину, зникненням ядер, сегментацією ядра, появою специфічної зернистості, втратою базофілії та збільшенням об'єму цитоплазми.

Процес формування зрілого гранулоциту з мієлобласта здійснюється в кістковому мозку протягом 10-13 днів. Регуляція гранулоцитопоеза забезпечується колонієстимулюючими факторами: ГМ-КСФ (гранулоцитарно-макрофагальний) і Г-КСФ (гранулоцитарний колонієстимулюючий фактор), що діють до кінцевої стадії дозрівання гранулоцитів. Клітини, комітовані у бік мієлопоезу, характеризуються експресією ранніх лінійних мієлоїдних маркерів - CD33, CD117, CD13, мієлопероксидаза. Основними маркерами зрілих клітин крові гранулоцитарного ряду є CD45, CD10, CD11c, CD13, CD 15, CD16, CD18, CD32, CD33, CD50, CD65w, CD117, лактоферин.

Цитохімічними маркерами клітин мієлопоеза є мієлопероксидаза, лужна фосфатаза, ліпіди, хлорацетатестераза, PAS-позитивна субстанція, концентрація яких збільшується в міру дозрівання клітин.

Морфологічна та функціональна характеристика клітинних елементів гранулоцитарного ряду. Нейтрофіли складають 60-70% загальної кількості лейкоцитів крові. Після виходу нейтрофілів з кісткового мозку в периферичну кров, частина їх залишається у вільній циркуляції в судинному

руслі (циркулюючий пул), інші займають пристінне положення, утворюючи маргінальний або пристінковий пул. У здорових людей співвідношення циркулюючого та маргінального пулів 1:3. Зрілий нейтрофіл перебуває в циркуляції 8-10 годин, потім надходить у тканини, утворюючи по чисельності значний пул клітин. Тривалість життя нейтрофільного гранулоциту у тканинах становить у середньому 2-3 дні. При цьому клітина «старіє», набуваючи пікнотичного вигляду. У людини за добу виробляється близько 10^{11} нейтрофільних гранулоцитів, тому, поряд з продукцією, конче важливим для організму є їх видалення, що здійснюється за механізмом апоптозу. Дефект будь-якої ланки життєвого циклу нейтрофілів призводить до порушення системи захисту організму, що відображається в рецидивуючих важких бактеріальних та грибкових інфекціях.

Нейтрофіли розглядаються як перша лінія захисту від зовнішніх і внутрішніх агентів. Основна функція нейтрофілів – участь у боротьбі з мікроорганізмами шляхом фагоцитозу. Нейтрофіли вбивають мікроорганізми з допомогою двох механізмів: киснезалежного і кисненезалежного. Кисневий або дихальний вибух – це процес утворення продуктів, що мають високу антимікробну активність (синглетний кисень, вільні радикали, перекис водню). Розвиток кисневого вибуху здійснюється протягом декількох секунд, що і визначило назву цих процесів як "вибух". Вміст гранул здатний зруйнувати практично будь-які мікроби. У азурофільних і специфічних гранулах нейтрофілів міститься більше ніж 20 різних протеолітичних ферментів, мієлопероксидаза, інтегрини, бактерицидні білки (лактоферин, катіонний антимікробний білок), лізоцим, лактоферин, лужна фосфатаза, викликають бактеріоліз і перетравлення мікроорганізмів. В азурофільних гранулах є велика кількість еластази, яка може бути фактором, що призводить до деструкції тканин у вогнищі запалення. Дві металопротеїнази, колагеназа, желатиназа можуть викликати деградацію позаклітинного матриксу. На мембрані нейтрофілів присутні різні групи рецепторів, які здійснюють зв'язок нейтрофілів з їх мікрооточенням і регулюють

функціональну активність нейтрофілів: хемотаксис, адгезію, дегрануляцію, поглинання. Це рецептори для Fc-фрагментів імуноглобулінів, компонентів комплементу (C3, C5a, CR1). Нейтрофіли здатні синтезувати та секретувати ряд цитокінів (ФНП- α , ІЛ-1 α , ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-8, ІЛ-12), колонієстимулюючих факторів (ГМ-КСФ, Г-КСФ, М-КСФ), трансформуючий фактор зростання β . Ці біологічно активні речовини дозволяють нейтрофілам брати участь в реакції запалення, забезпечують їх дозрівання та функціональну активність, а також визначають вплив нейтрофілів на ефекторні функції інших клітин.

Таким чином, нейтрофіли містять різноманітні по хімічному складу та спрямованості дії з'єднання, завдяки яким можуть впливати на клітини крові, строми, ендотелій судин і інші системи організму, при взаємодії з якими вони виступають і як ефектори, і як мішені. Різноманітність активних речовин, що містяться в нейтрофілах, свідчить про їх участь в кілінгу, гострому запаленні й тканинній деструкції.

Еозинофіли складають 0,5-5% від всіх лейкоцитів крові, циркулюють протягом 6-12 годин, потім надходять у тканини, термін їх життя – близько 12 діб. Тканинні еозинофіли розподілені нерівномірно. Найбільша кількість еозинофілів виявляється у тканинах, що стикаються із зовнішнім середовищем: підслизовий шар дихального, травного та частково сечостатевого тракту. Еозинофіли, покинули кровоносне русло, повторно в нього не повертаються і руйнуються шляхом апоптозу в тканинах.

На поверхні мембрани еозинофіла є рецептори до Fc-фрагменту молекули імуноглобуліну, рецептори для компонентів комплементу, молекули адгезії, CD52, CD69, CD40. У клітинах міститься значна кількість гранул, основним компонентом яких є головний лужний білок (катіонний білок), а також перекиси, що мають бактерицидну активність. Головний лужний білок володіє цитотоксичністю, пошкоджує деякі личинки гельмінтів, нейтралізує гепарин. Гранули еозинофілів містять кислу фосфатазу, арилсульфатазу, колагеназу, еластазу, глюкуронідазу, катепсин, еозинофільну пероксидазу, простагландини та інші ферменти.

Простагландини пригнічують дегрануляцію опасистих клітин. Арилсульфатаза інгібує анафілактоїдні речовини, тим самим, зменшуючи реакцію гіперчутливості негайного типу. За допомогою різних ферментів нейтралізуються продукти секреції опасистих клітин. Еозинофіли зумовлюють позаклітинний цитоліз, тим самим, беручи участь в протигельмінтному імунітеті. Об'єктом фагоцитозу еозинофілів можуть бути бактерії, гриби, продукти розпаду тканин, імунні комплекси. Основне значення еозинофілів полягає в їх участі в механізмах захисту при гельмінтозах, паразитозах, у реакціях гіперчутливості негайного типу, пов'язаних з гострою алергією.

Базофіли та тучні клітини мають кістковомозкове походження. Зрілі базофіли надходять в кровотік, де період їх напівжиття становить близько 6 год. На частку базофілів припадає лише 0,5% від загального числа лейкоцитів крові. Базофіли мігрують у тканини, де через 1-2 доби після здійснення основної ефекторної функції гинуть. У гранулах цих клітин містяться гістамін, гістидин, хондроїтинсульфати А і С, гепарин, серотонін, ферменти (трипсин, хімотрипсин, пероксидаза, РНКаза, арилсульфатаза, α -глюкуронідаза), лейкотрієни, тромбокساني, простагландини, фактор хемотаксису еозинофілів, фактор активації тромбоцитів, фактор хемотаксису нейтрофілів, ІЛ-3, ІЛ-4, ІЛ-5, ІЛ-6, ГМ-КСФ, ФНП- α .

Тучні клітини локалізуються в епітелії, підслизового шару шлунково-кишкового, дихального та уrogenітального трактів, в шкірі, сполучній тканині, яка оточує капіляри, серозних оболонках. Мікрооточення визначає остаточний фенотип тучних клітин, серед яких виділяють дві субпопуляції: сполучнотканинні та слизові тучні клітини, які фіксуються на специфічних структурах сполучної тканини, таких як фібронектин і ламінін. Білки позаклітинного матриксу впливають на остаточне диференціювання, стан активності та виживання клітин. Гладкі клітини здатні до поділу і мають великий термін життя (місяці, роки).

Тучні клітини більші за базофіли, мають округле ядро і велику кількість

поліморфних гранул, які за складом аналогічні гранулам базофілів. На поверхні тучних клітин та базофілів є рецептори для комплементу, Fc γ -рецептори, високої щільності рецептори до IgE, що забезпечують не тільки зв'язування IgE, але і звільнення гранул, вміст яких зумовлює розвиток алергічних реакцій. IgE, що секретуються плазматичними клітинами в слизових оболонках, фіксуються на рецепторах тучних клітин. Така фіксація може зберігатися дуже довго (до року) і не супроводжується активацією клітин. Стан організму, що характеризується фіксацією на рецепторах тучних клітин IgE до конкретного алергену, називається сенсibiliзацією до цього алергену. При фіксації алергену зі специфічними до нього IgE-антитілами на поверхні тучних клітин відбувається активація клітини, злиття мембран гранул з цитоплазматичною мембраною і викид вмісту гранул назовні. Дегрануляція здійснюється протягом кількох секунд та не призводить до загибелі клітини. У тучних клітинах (але не в базофілах) можливий процес відновлення гранул. Наслідком активації та дегрануляції тучних клітин є: місцева дилатація та підвищення проникності судин, гіперемія і свербіж, гіперпродукція слизу, роздратування нервових закінчень, тобто реакція гіперчутливості негайного типу. Тучні клітини та базофіли секретують еозинофільний хемотаксичний фактор, за допомогою якого в осередок запалення мігрують еозинофіли, поглинаючи й нейтралізуючі гістамін. Реакції, обумовлені базофілами та тучними клітинами, необхідні для формування запального процесу як головної реакції імунної системи на чужорідні агенти.

Моноцитопоез

Клітини, об'єднані у систему мононуклеарних фагоцитів (СМФ), включають кістковомозкові попередники, пул циркулюючих в судинним руслі моноцитів і тканинні макрофаги. Диференціювання моноцитів з монобласта відбувається в кістковому мозку протягом 5 днів, після чого вони відразу виходять в кровотік, не створюючи (на відміну від гранулоцитів) кістковомозкового резерву. У крові моноцити розподіляються на

циркулюючий і пристінковий пули, кількісні співвідношення яких можуть змінюватись. У периферичній крові моноцити складають від 1 до 10% всіх лейкоцитів ($80-600 \times 10^9$ /л). Моноцити циркулюють у кровотоку від 36 до 104 год, а потім залишають судинне русло, взаємодіючи зі спеціалізованими адгезивними молекулами на ендотеліальних клітинах. За добу в тканини з кровоносного русла йде $0,4 \times 10^9$ моноцитів. При запаленні збільшується кількість моноцитів, що надходять у кров та тих які покидають кров'яне русло, час їх транзиту через кров при цьому скорочується.

Морфологічна та функціональна характеристика клітинних елементів моноцитарного ряду:

Моноцит - клітина діаметром 14-20 мкм. Ядро світло-фіолетове, розташоване центрально. Характерна різноманітність форм ядра: лопатеве, бобоподібне, сегментоване, паличкоподібне. Хроматин пухкий, світлий, розташований нерівномірно. Цитоплазма рясна, сірого або блідо-блакитного кольору, НЕ постійно присутні численні пілоподібні азурофільні гранули.

Макрофаг - діаметр 15-80 мкм. Форма клітин неправильна, ядро овальної або довгастої форми, хроматин петлистий, розподілений нерівномірно, цитоплазма рясна, без чітких меж, блакитнуватою кольору з азурофільними гранулами та вакуолями, що надають клітині пінистого вигляду. Можуть міститися залишки фагоцитованого матеріалу.

Цитохімічні маркери клітин СМФ: неспецифічна естераза, пригнічена фторидом натрію, кисла фосфатаза, активність яких найвища у МФ. В міру дозрівання клітин моноцитарного ряду знижується активність мієлопероксидази, відзначається незначний вміст глікогену та ліпідів. У тканинах моноцити диференціюються в тканинні макрофаги (гістіоцити). Здебільшого оновлення макрофагів відбувається за рахунок припливу моноцитів з крові. Тканинний пул мононуклеарних фагоцитів у 25 разів перевищує їхній зміст в крові; найбільша кількість макрофагів міститься в печінці (клітини Купфера, 56%), легенях (15%), селезінці (15%), перитонеальній порожнині (8%), кілька менше в центральній нервовій

системі (клітини мікроглії та астроцити), кістковій тканині (остеокласти) і інших тканинах. Тривалість життя тканинних макрофагів обчислюється місяцями та роками.

Макрофаги, відповідно до їх структурно-функціональних параметрів, розділені на 2 класи: антигенпереробні (професійні фагоцити) і антигенпредставляючі (дендритні клітини). Клас професійних фагоцитів включає вільні макрофаги сполучної тканини, підшкірного жирового шару, серозних порожнин, альвеолярні макрофаги, фіксовані макрофаги печінки, центральної нервової системи, кісткового мозку, селезінки, лімфовузлів. До антигенпредставляючим макрофагам відносяться фолікулярні дендритні клітини (ФДК), інтердигітальні дендритні клітини, клітини Лангерганса, специфічною функцією яких є захоплення, перероблення і подання антигенів лімфоцитам.

Мононуклеарні фагоцити секретують цитокіни й інші біологічно активні речовини, регулюючи проліферацію, диференціювання і функціональну активність різних клітин. Основні етапи фагоцитозу у моноцитів/макрофагів аналогічні нейтрофілам. Ці клітини беруть участь не тільки у видаленні мікроорганізмів, а й уламків власних клітин, апоптотичних тілець, циркулюючих імунних комплексів і інших молекул. Багато патогенних мікроорганізмів в процесі еволюції придбали здатність уникати захоплення і перетравлення в макрофагах. Так, полісахаридна капсула пневмококів і клебсієлл оберігає їх від взаємодії з рецепторами макрофага, виникає стійкість капсульних бактерій до фагоцитозу. Мікобактерії можуть бути фагоцитовані, але такий фагоцитоз не супроводжується активацією дихального вибуху. Крім того, мікобактерії інгібують злиття лізосом з фагосоною, що перешкоджає їх перетравленню в макрофагах (незавершений фагоцитоз). Доза мікроорганізмів може бути занадто велика і макрофаги не справляються з їх елімінацією.

Захоплення і переробка (процесинг) антигену макрофагом є початком індукції специфічної імунної відповіді. Макрофаги відносять до професійних

антигенпредставляючим клітинам (АПК), здатним взаємодіяти з Т-лімфоцитами. Послідовність подій процесу представлення (презентації) антигену Т-лімфоцитам наступна. Антиген, що потрапив в клітину, наприклад бактерії, піддається переробленню з утворенням окремих пептидних фрагментів, частина яких відповідає антигенним епітопам, тобто мають специфічність даного антигену. Ці фрагменти в цитоплазмі АПК формують комплекси з власними антигенами HLA II класу, які транспортуються до мембрани АПК, де і представляються Т-хелперам (CD4+). Інший варіант презентації стосується представленню ендогенно утворюючихся антигенів, наприклад, при внутрішньоклітинній реплікації вірусу. В цьому випадку вірусні білки утворюють комплекси з власними антигенами АПК HLA I класу, які транспортуються до мембрани та представляються Т-кілерам (CD8+).

Активовані макрофаги продукують величезну кількість цитокінів, що володіють ефекторною і регуляторною активністю, здатних запускати каскад запальних реакцій. Серед них прозапальні цитокіни (ІЛ-1, ІЛ-6, ІЛ-8, ІЛ-12, ІЛ-18, ФНП- α , інтерферон- α , моноцитарний хемотаксичний протеїн, міграцію інгібуючий фактор) і протизапальні цитокіни (ІЛ-10, трансформуючий ростовий фактор β). З високим рівнем ІЛ-1 пов'язані лихоманка, анорексія, нейтрофілоз, активація ендотеліальних клітин з підвищенням експресії на них молекул адгезії, активація нейтрофілів, посилений синтез гострофазних білків, компонентів комплементу, глюкокортикоїдів, синтез колагену та колагеназ, активація остеокластів, посилення протеолізу в м'язовій тканині.

Численні функції моноклеарних фагоцитів дають основу рахувати їх ключовими клітинами в ініціації та регуляції імунної відповіді, гемопоезу, в реалізації неспецифічної резистентності організму.

Мегакаріоцитопоез

Диференціювання і дозрівання клітин мегакаріоцитопоезавідбувається в кістковому мозку, де з комітованих, морфологічно неідентифікованих,

клітин-попередників – КУО-мгкц формуються колонії мегакаріоцитарних клітинних елементів. При дозріванні клітини проходять три морфологічно диференційовані стадії: мегакаріобласт, який не перевищує 10% усієї популяції, промегакаріоцит (близько 15%) та мегакаріоцит, з його частку припадає від 75 до 85%. Мегакаріобласт – сама рання морфологічно розпізнавана клітина мегакаріоцитарного ряду. Процес перетворення мегакаріобластів на мегакаріоцити триває близько 25 год. Час дозрівання мегакаріоцита становить приблизно 25 год, а життєвий цикл його - близько 10 діб.

Регуляція мегакаріоцитопоезу здійснюється за принципом зворотної зв'язку: надлишок тромбоцитів в крові гальмує тромбоцитопоез, а тромбоцитопенія його стимулює. Основними регуляторами, стимулюючими мегакаріоцитопоез, є ІЛ-1, ІЛ-3, ІЛ-4, ІЛ-6, ІЛ-11, фактор стовбурових клітин, лейкоз-інгібуючий фактор, ГМ-КСФ, Г-КСФ, еритропоетин, тромбопоетин. До факторів, інгібуючим тромбоцитопоез, відносять тромбоцитарний фактор 4, трансформуючий фактор зростання $\beta 1$, інтерферони- α і γ та інші інгібітори.

Морфологічна та функціональна характеристика клітинних елементів мегакаріоцитарного ряду . Відмінною рисою клітинних елементів мегакаріоцитопоеза є їх здатність до ендомітозу (поліплоїдизації) - поділу ядра без поділу цитоплазми, що призводить до появи гігантського розміру клітин (мегакаріоцитів). У процесі мегакаріоцитопоеза клітини роблять від 3 до 6 ендомітозів, що відповідає плідності мегакаріоцита від 8 н до 64 н.

Дозрівання мегакаріоцитарних елементів супроводжується накопиченням у цитоплазмі гранул. У α -гранулах мегакаріоцитів міститься значна кількість білків: фактор Віллебранда, тромбоцитарний фактор 4, тромбоспондин, фібриноген, фібронектин, тромбоцитарний ростовий фактор.

Основна функція мегакаріоцитопоеза - формування тромбоцитів, підтримка їх кількості у кровотоку на постійному рівні. Мегакаріоцити розташовуються в кістковому мозку поблизу кістковомозкових синусів і в

міру дозрівання всередину клітини врастають роздільні мембрани, за якими надалі відбувається розподіл цитоплазми на тромбоцити.

Тромбоцит - без'ядерна клітина діаметром 2-4 мкм, середній об'єм 7,5 (від 3 до 10 мкм³). У кровотоку в неактивному стані тромбоцити мають дискоїдну форму. При активації клітини набувають сферичності та утворюють псевдоподії й нитки. Активні (збуджені) тромбоцити мають зірчасту форму з ниткоподібними відростками - псевдоподіями. Період дозрівання тромбоцитів в середньому складає 8 днів, тривалість перебування у кровотоку від 9 до 11 днів. У циркуляції знаходиться близько 67% тромбоцитів. Розташовуються тромбоцити в кровоносному руслі в двох позиціях - в кровотоку і пристінно. Тромбоцити – основний компонент тромбоцитарно-судинного гомеостазу, в якому формується тромбоцитарний тромб. Тромбоцити здатні викликати локальну вазоконстрикцію, стимулювати репарацію тканин, беруть участь в регулюванні місцевої запальної реакції за рахунок вивільнення відповідних медіаторів з пулів зберігання.

У цитоплазмі тромбоцитів розташовані гранули, що містять пули зберігання різних речовин. У тромбоцитах виділяють 3 види органел зберігання: α -гранули, електроннощільні тільця (δ -гранули) та лізосоми (γ -гранули). У α -гранулах зберігається до 30 різних білків, більшість з яких були синтезовані ще в мегакаріocyтах: β -тромбоглобулін, фактор 4 тромбоцитів, фактор V, фактор Віллебранда, фібриноген, тромбоспондин, фібронектин, вітронектин, α 2 -макроглобулін, Р-селектин, фактор зростання тромбоцитів (PDGF), інгібітор тканинного активатора плазміногену тип 1 (PAI-1), α 2 -антиплазмін, α 1 -антитрипсин, протеїн S і інші. У щільних тільцях (δ -гранули) зберігаються субстанції, що викликають насамперед судинні реакції та агрегацію тромбоцитів: нуклеотиди (АТФ, АДФ, АМФ, ц-АМФ, ГДФ), серотонін, адреналін, норадреналін, Дофамін, гістамін, Са 2+ та інші. Вивільнені з пулу зберігання АТФ і АДФ швидко метаболізуються в плазмі до АМФ і аденозину; останні мають пряму коронаророзширювальну

дію. АДФ є найважливішим фізіологічним метаболітом, що забезпечує первинний гемостаз, стимулюючи агрегацію тромбоцитів. У лізосомах (γ -гранули) знаходяться гідролітичні ферменти – пероксидаза, глюкозидази, галактозидаза, кисла фосфатаза, неспецифічна естераза. Лізосоми виділяють секрет який в них зберігається тільки при незворотній активації.

Тромбоцити здатні частково секретувати вміст гранул під час оборотної активації та в процесі трофічних взаємодій з капілярною мережею органів і повністю секретувати під час реакцій вивільнення, пов'язаних із необоротною активацією. Після дегрануляції цитоплазма тромбоцитів «спустошена». Після секреції більшість гранулярних мембран деградує, гранули не відновлюються, і тромбоцити втрачають свою фізіологічну активність. Якщо вони знаходяться в струмі крові, змінена форма сприяє їх швидкій елімінації в селезінці.

Лімфоцитопоез

Лімфоцити, також проходять початкові етапи диференціювання в кістковому мозку. На частку лімфоїдних клітин у кістковому мозку доводиться близько 10% каріоцитів. З загальної лімфоїдної популяції близько 60% знаходиться в процесі дозрівання, інші - зрілі клітини, готові до еміграції або навпаки, які мігрували в кістковий мозок із крові. У крові лімфоцити складають всього 0,1% від спільного пула лімфоцитів, а серед лейкоцитів крові - 20-35%.

Лімфоцити - *клітини імунної системи*, гетерогенна популяція, відмінна по імунофенотипічним і функціональним характеристикам. На кожній стадії розвитку клітини імунної системи експресують на своїй поверхні мембранні білки, що виконують роль рецепторів, молекул адгезії, лігандів, необхідних для функціонування клітини. Мембранні білки, імунохімічно охарактеризовані як маркери тих або інших клітин, отримали позначення CD (англ. *cluster designation*). Різні субпопуляції Т-лімфоцитів відрізняються один від одного і від В-лімфоцитів набором CD- білків. Окремі CD-білки позначають цифрами, наприклад CD1, CD2, CD3. перелік CD-антигенів,

внесених в номенклатуру, постійно поповнюється, на даний час містить більше ніж 350 CD-антигенів і їх підтипів.

У відсутності контакту з антигеном лімфоцити є клітини, що покояться, вони не діляться, не секретують активні речовини, їх метаболічна активність мінімальна. Морфологічно такі клітини є малі лімфоцити. Тільки після зв'язування антигенів відбувається активація лімфоцитів, що приводить до їх диференціювання в ефекторні та регуляторні клітини. На кожному лімфоциті є унікальний по специфічності рецептор, що передається дочірнім клітинам. У результаті виникають клони, відмінні по специфічності рецепторів. Кожен клон налаштований на свій власний антиген, а в сукупності всі клони лімфоцитів впізнають безліч антигенів, що існують у природі. При потраплянні в організм антигену в імунну відповідь залучається той клон (зазвичай група клонів), клітини якого несуть відповідний рецептор.

Морфологічна та функціональна характеристика клітинних елементів лімфоїдного ряду. *Лімфоцит* - діаметр 7-12 мкм. Ядро округлої або бобоподібної форми, розташоване в центрі або ексцентрично. Цитоплазма світло-синя, з перинуклеарною зоною.

Т-лімфоцити - велика частина лімфоцитів периферичної крові; вони так названі, оскільки після утворення у кістковому мозку проходять диференціювання в тимусі. У кістковому мозку формуються ранні попередники Т-лімфоцитів, які потім заселяють тимус і далі периферичні лімфоїдні органи. Найбільш раннім Т-клітинним маркером є CD7, поява якого на стовбурових гемопоетичних клітинах вказує на Т-клітинну спрямованість диференціювання. Практично одночасно з CD7 починається цитоплазматична експресія CD2 та CD3. На цьому ж етапі чи близькому до нього на Т-клітинах з'являється мембранний антиген CD5, а потім і CD2. На ранніх етапах диференціювання Т-лімфоцитів може відзначити експресія CD10.

Міграція попередників Т-лімфоцитів з кісткового мозку до тимуса супроводжується подоланням гематотимічного бар'єру. Під впливом

мікрооточення тимуса клітини проходять ряд стадій спочатку в кортикальному, потім у медулярному шарі, в ході яких формується Т-клітинний рецептор, який служить для розпізнавання антигену. Етап диференціювання тимоцитів в медулярному шарі характеризується появою мембранних маркерів CD3, CD2, TCR $\alpha\beta$, поділом Т-лімфоцитів на дві субпопуляції – Т-хелпери (CD4+) та цитотоксичні клітини (CD8+).

Т-лімфоцити залишають тимус через судини кортико-медулярної зони та, після потрапляння в кровотік, стають частиною єдиного пула рециркулюючих Т-лімфоцитів. Після ряду послідовних поділів диференціювання закінчується утворенням сенсibiliзованих (ефекторних) Т-хелперів (CD4), або Т-цитотоксичних лімфоцитів (CD8) та формуванням клітин пам'яті (CD45RO+), частка яких становить майже 50% лімфоцитів.

Основним та найбільш специфічним маркером Т-лімфоцитів є CD3. Менш специфічні, але майже завжди присутні на Т-клітинах CD7, CD2, CD5. Молекули CD4 визначають субпопуляцію Т-лімфоцитів - Т-хелпери та CD8 субпопуляцію Т-кілерів (цитотоксичні лімфоцити).

Таким чином, диференціювання Т-лімфоцитів у тимусі призводить: до вибору шляху розвитку Т-клітин, придбанню основних (CD3, CD4, CD8) та супутніх рецепторних структур, що забезпечують проліферацію та дозрівання клітин, перегрупування генів і формуванню Т-клітинного рецептора, дозрівання основних субпопуляцій (Т-хелпери, Т-цитотоксичні та регуляторні Т-клітини), а також виходу клітин в периферичні органи імунної системи.

В-лімфоцити проходять диференціювання в кістковому мозку, де зміст їх вищий, ніж Т-лімфоцитів та його попередників. Основною характеристикою В-лімфоцитів є наявність на їх мембрані рецепторів для розпізнавання антигенів, основу яких складають молекули імуноглобулінів.

В-лімфоцити в кістковому мозку проходять *етап антигеннезалежного диференціювання*. На цій стадії відбувається початковий етап перебудови генів важких μ -ланцюгів імуноглобулінів і з'являється на мембрані CD19,

який є загальним (пан - В-клітинним) маркером для всіх В-лімфоцитів і бере участь у процесах активації клітин. Поява CD19 відбувається в клітинах, що експресують молекули HLA-DR. Відмінною рисою наступного етапу диференціювання В-лімфоцитів є експресія на мембрані CD10 (CALLA) і цитоплазматичного CD22 антигенів. Потім відбувається поява цитоплазматичних μ -ланцюгів імуноглобулінів та молекули CD20: клітина набуває імунофенотипу **пре-В-лімфоциту**. На цій стадії відбувається перебудова генів легких ланцюгів, яка завершує процес генетичних перетворень в В-лімфоцитах. Наслідком реаранжування генів L-ланцюгів є експресія повноцінного мембранного IgM в поєднанні з іншими мембранними маркерами. Цей етап відповідає стадії **незрілої В-клітини**. Процес антигеннезалежного диференціювання В-лімфоцитів завершується експресією IgD, що співіснує з IgM-рецептором. Присутність на мембрані IgM + IgD, CD19, CD20 антигенів дозволяє вважати В-лімфоцит **зрілою (наївною) клітиною**. З моменту завершення формування рецепторного комплексу В-клітина набуває здатності взаємодіяти з антигеном. Зрілі наївні В-клітини залишають кістковий мозок, маючи сформований імуноглобуліновий рецептор.

В-лімфоцити потрапляють у циркуляцію та надходять у периферичні лімфоїдні органи, де при зустрічі з антигеном вони проходять етап антигензалежного диференціювання. У цих органах вони виконують свої функції, локалізуючись у зовнішніх шарах кори лімфатичних вузлів, крайової зони та фолікулах білої пульпи селезінки. Тривалість життя більшості зрілих В-лімфоцитів при відсутності антигенної стимуляції складає кілька місяців. Основним джерелом відновлення популяції В-лімфоцитів служить кістковий мозок. Зрілі В-лімфоцити мають необхідні мембранні молекули, щоб не тільки розпізнати антиген, але й ефективно контактувати з іншими клітинами імунної системи, молекулами імуноглобулінів, компонентами комплементу, цитокінами. Лімфоцити експресують на мембрані CD19, CD20, CD21, CD22, CD24, CD37, тобто мають фенотип периферичних В-клітин. Частіше ці

клітини містять мембранні IgM+IgD або IgM. Активаційні антигени CD23, CD5, CD38, і навіть CD10, зазвичай, відсутні. При взаємодії з антигеном відбувається активація і проліферація В-лімфоцитів, відображенням якої є поява на мембрані молекули CD23, підвищена експресія HLA-DR, втрата мембранного IgD. Особлива група антигенів, що включає головним чином аутологічні та нечисленні (переважно тимунезалежні) екзогенні антигени, веде до появи експресії CD5 в процесі активації В-лімфоцитів. Активовані CD5-CD23+ В-лімфоцити мігрують в фолікул лімфатичного вузла, структура якого через швидку проліферацію видозмінюється - з'являється зародковий центр і, так звана, мантійна зона.

В умовах мікрооточення зародкового центру відбувається багатоступеневий процес антигензалежного дозрівання і диференціювання В-клітин. У зародковому центрі частина клітин диференціюється в центроцити, на яких з'являються мембранні імуноглобуліни (IgG, IgA або IgE). Якщо клітина зазнала антигенної стимуляції, то з продукції IgM синтез перемикається на IgG, IgA та IgE. З центроцитів формуються В-клітини пам'яті та плазматичні клітини. Спрямованість диференціювання В-лімфоцитів в клітини пам'яті або в плазматичні клітини регулюється в апікальній світлій зоні зародкових центрів. Зв'язування молекули CD40 на В-клітинах з відповідним лігандом Т-лімфоцитів веде до формування В-клітин пам'яті. Плазмоцитарне диференціювання В-лімфоцитів відбувається після їх взаємодії з розчинним фрагментом CD23 або антигеном CD23. Зрілі плазматичні клітини виконують основну функцію – синтез та секрецію імуноглобулінів, що забезпечують гуморальний захист організму. При цьому плазматична клітина втрачає більшість В-клітинних мембранних рецепторів, на їх поверхні визначається тільки CD38. Субпопуляція CD5+ В-клітин присутня на кордоні зародкового центру та внутрішнього шару мантії. Ці клітини здатні до диференціювання у плазмоцити та до перемикання класів імуноглобулінів з IgM на IgG та IgA.

Загальними маркерами В-лімфоцитів є CD19, CD20, CD22, CD79a .

Основна функція В-лімфоцитів - реалізація гуморальної імунної відповіді, в основі якої лежить активація В-клітин і їх диференціювання в антитілоутворюючі плазматичні клітини. В процесі відповіді відбувається перемикання синтезу антитіл з IgM на IgG – антитіла, а при імунній відповіді у слизових оболонках – на IgA-антитіла. Антитіла нейтралізують вільні антигени, утворюючи імунні комплекси, опсонізують клітини-мішені фагоцитів і природних кілерів, активують комплемент.

У результаті імунної відповіді утворюються Т- і В-клітини пам'яті, які забезпечують прискорений розвиток реакції на повторне влучення в організм тих же антигенів – вторинна імунна відповідь. Клітини пам'яті являють собою малі лімфоцити, що володіють здатністю до рециркуляції та великої тривалості життя, що зумовлює тривале збереження імунітету до збудників інфекційних захворювань та іншим чужорідним агентам. У разі, якщо лімфоцити не отримали комплексу активуючих сигналів, а також після виконання своїх функцій або при дії деяких факторів (радіація, глюкокортикоїди), вони піддаються апоптозу.

Природні кілери (НК-клітини) - фракція лімфоцитів, позбавлених маркерів Т-і В-клітин, їхній фенотип CD3-CD16+CD56+. Вони не мають перебудови генів Т-клітинного рецептора, експресують на мембрані рецептор до комплементу (C3d), вірусу Епштейна-Барр (CD21), Fc- рецептор. Вміст цих клітин найбільш значний в печінки та селезінці, незначно – у лімфатичних вузлах, кістковому мозку, легенях, лімфоїдних фолікулах тонкої кишки. У периферичній крові на частку НК-клітин доводиться від 5 до 25% лімфоцитів. Морфологія цих клітин відповідає великим гранулярним лімфоцитам – 12–15 мкм у діаметрі, мають азурофільні гранули в цитоплазмі. У гранулах містяться перфорин - білок, що зумовлює утворення пор в мембрані клітин- мішеней, гранзими - ферменти, що викликають індукцію апоптоза при проникненні в клітини-мішені, хондроїтинсульфат А, що захищає НК- клітини від аутолізу. Основна функція природних кілерів –

контактний цитоліз клітини-мішені (інфіковані вірусом, пухлинні та швидко проліферуючі клітини) з викидом сигнальних молекул, що включають апоптоз.

ДОСЛІДЖЕННЯ В ЛАБОРАТОРНОЇ ГЕМАТОЛОГІЇ

Загальний аналіз крові

Аналіз результатів дослідження крові є невід'ємною ланкою в діагностичному процесі. При аналізі гемограми будь-які зміни трактують як патологічні, що вимагає ретельного обстеження пацієнта. Вони можуть мати неспецифічний характер, у цих випадках їх використовують для динамічного спостереження за хворим. При системних захворюваннях кровотворної системи загальний аналіз крові набуває першорядного діагностичного значення.

На показники крові впливає емоційний стан пацієнта, добові та сезонні ритми, стан пацієнта в момент взяття крові. Зі збільшенням висоти над рівнем моря підвищується рівень гематокриту і гемоглобіну. Фізичні вправи можуть призводити до суттєвих змін числа лейкоцитів, що обумовлено гормональними зсувами. Зміна пацієнтом положення тіла (лежачи-стоячи) призводить до підвищення показників гемоглобіну, гематокриту і числа еритроцитів та лейкоцитів. Цей ефект обумовлений проникненням води та речовин, що фільтруються з судинного русла в тканини в результаті підвищення гідростатичного тиску. Виражені діарея та блювання можуть призводити до значної дегідратації та гемоконцентрації, і навпаки - після регідратації спостерігають зниження рівня гемоглобіну та гематокриту, що може бути помилково прийнято за крововтрату.

Таблиця 2

Показники периферичної крові у дорослих

Показник	Нормальні значення
Гемоглобін, г/л	чоловіки - 130-160 жінки - 120-140
Еритроцити (RBC), $\times 10^{12}/\text{л}$	чоловіки - 4-5 жінки - 3,9-4,7

Гематокрит, %	чоловіки - 40-48 жінки - 36-42
Середній Об`єм еритроциту (MCV), фл, мкм ³	80-100
Середнє зміст гемоглобіну в еритроциті (MCH), пг	27-31
Середня концентрація гемоглобіну в еритроциті (MCHC), г/дл	30-38
Ширина розподілу еритроцитів по об'єму, (RDW - CV), (%)	11,5-14,5
Ретикулоцити, ‰ (або %)	2-12 (0,2-1,2)
Лейкоцити, $\times 10^9$ /л	4-9
Нейтрофіли, %, ($\times 10^9$ /л):паличкоядерні сегментоядерні	1-6 (0,04-0,3) 47-72 (2-5,5)
Еозинофіли	0,5-5 (0,02-0,3)
Базофіли	0-1 (0-0,065)
Лімфоцити	19-37 (1,2-3)
Моноцити	3-11 (0,09-0,6)
Плазматичні клітини	-
тромбоцити, $\times 10^9$ /л	180-320
Середній Об`єм тромбоциту (MPV), фл	7,4-10,4
Ширина розподілу тромбоцитів за об'ємом (PDW), %	10-20
Тромбокріт (PCT), %	0,15-0,4
ШОЕ, мм/год	чоловіки - 2-10 жінки - 2-15

Для усунення або зведення до мінімуму впливу цих факторів кров для повторних аналізів необхідно брати в одних і тих же умовах. Кров для клінічного аналізу беруть у пацієнта з пальця, вени або з мочки вуха, у новонароджених – із п'яти. Кров слід брати натще (після приблизно 12 година голодування, утримання від вживання алкоголю та куріння), між 7 і 9 годину ранку, при мінімальній фізичної активності безпосередньо перед взяттям (протягом 20-30 хв), у положенні пацієнта лежачи або сидячи.

Автоматизоване дослідження клітин крові

Автоматичні лічильники крові оцінюють розміри, структурні, цитохімічні та інші характеристики клітин. Вони аналізують великі популяції клітин в одному зразку і мають кілька різних каналів підрахунку клітинних популяцій і концентрації гемоглобіну. Гематологічні аналізатори дозволяють не тільки автоматизувати процес підрахунку клітин крові, але й отримати додаткові інформативні характеристики клітин крові.

У гематологічних аналізаторах різних виробників нормальні показники крові, встановлені на прилад, можуть суттєво варіювати в залежності від

норм, які використовуються в тій чи іншій країні. Перед початком роботи на аналізаторі рекомендовано, дотримуючись інструкцій приладу, встановити референтні показники відповідно до норм, прийнятими в нашій країні.

Еритроцитарні параметри. RBC (Red blood cells) - кількість еритроцитів крові ($\times 10^{12}/\text{л}$). Вважаються всі частки розміром понад 36 фл. Можливі помилки підрахунку еритроцитів на гематологічних аналізаторах представлені в табл. 3.

Таблиця 3

Можливі помилки підрахунку еритроцитів на гематологічних аналізаторах

Хибне підвищення	Хибне зниження
гігантські тромбоцити (з об'ємом більше 30 фл); кріоглобулінемія високий лейкоцитоз (більше $50 \times 10^9/\text{л}$)	аглотинація еритроцитів; виражений мікроцитоз еритроцитів

Кріоглобулінемія може спостерігатися у хворих мієломою, макроглобулінемією Вальденстрема, злоякісними новоутвореннями, лейкозом, лімфопроліферативними та аутоімунними захворюваннями, вірусний гепатит, цукровий діабет. Аглотинація еритроцитів може привести до зниження показників RBC, збільшення MCV. Це можливо перевірити за підвищеними значенням MCH та MCHC.

Нормобласти (NRBC) – більшість гематологічних аналізаторів підраховує всі ядромісткі клітини, тому при наявності нормобластів у периферичній крові вони визначаються як лейкоцити та можуть бути причиною збільшення WBC і лімфоцитів, тому що нормобласти мають розмір малого лімфоцита. У цих випадках необхідний суворий візуальний контроль і корекція істинної кількості лейкоцитів. Нормобласти з'являються в периферичній крові при онкогематологічних захворюваннях, анеміях (гемолітичні, B_{12} - і фолієводефіцитні), важких септичних станах і інтоксикаціях. Наявність у крові нормобластів може розцінюватися як маркер гіпоксії та запалення.

Hb (*Hemoglobin*) - концентрація гемоглобіну (г/дл або г/л) в більшості гематологічних аналізаторів визначається фотометрично геміглобінціанідним або геміхромними методами. Коефіцієнт варіації при цьому не перевищує 2%.

Таблиця 4

Можливі помилки вимірювання гемоглобіну

Хибне підвищення	Хибне зниження
високий лейкоцитоз (більше $50 \times 10^9/\text{л}$) присутність нестабільних гемоглобінів (HbS, HbC) гіперліпідемія гіпербілірубінемія кріоглобулінемія гемоліз (in vivo) резистентні до лізису еритроцити	Утворення мікрозгустків у пробі крові

Підвищення концентрації гемоглобіну спостерігається при реактивних та пухлинних еритроцитозах, зневодненні.

Зниження концентрації гемоглобіну має місце при анеміях, гіпергідратації.

HCT (*hematocrit*) - гематокрит. Показник відображає суму прямо вимірних об'ємів еритроцитів в одиниці об'єму крові. Проблеми «залишкової» плазми (плазми, що залишилася між еритроцитами при центрифугуванні) в гематологічних аналізаторах в порівнянні з гематокритною центрифугою не існує. Коефіцієнт варіації для автоматичного методу – менше ніж 1%, порівняно з 1-2% щодо показника методом центрифугування.

Підвищення гематокриту спостерігається при реактивних та пухлинних еритроцитозах, зменшенні об'єму циркулюючої плазми (опікова хвороба, дегідратація). *Зниження гематокритної величини* спостерігається при анеміях, вагітності (другий триместр), гіпергідратації.

Можливі помилки вимірювання гематокриту

Хибне підвищення	Хибне зниження
гігантські тромбоцити (з об'ємом більше 30 фл) кріоглобулінемія високий лейкоцитоз (більше $50 \times 10^9/\text{л}$) гіперглікемія (600 мг /дл)діабетичний кетоацидоз	аглотинація еритроцитів виражений мікроцитоз еритроцитів (< 36 фл)

При гіперглікемії та діабетичному кетоацидозі відзначається гіперосмолярність плазми крові. При розведенні крові *in vitro* ізотонічним розчином відбувається швидке набухання еритроцитів, що і викликає завищення значення гематокриту. У цих випадках визначення гематокриту на гематокритній центрифугі є більше точним.

MCV (*Mean corpuscular volume*) – середній об'єм еритроцита, виражається в кубічних мікрометрах (мкм³) або у фемтолітрах (1 фл = 1 мкм³ або $1 \times 10^{-15}/\text{л}$). MCV визначається більшістю гематологічних аналізаторів завдяки прямій залежності амплітуди електричного імпульсу від об'єму клітини. Обчислюється MCV розподілом суми клітинних об'ємів на число еритроцитів.

Водночас MCV – це середній показник об'єму всієї популяції еритроцитів, що містяться в діапазоні від 36-360 фл. Тому нормальне значення MCV може бути при наявності у пацієнта одночасно вираженого макро- і мікроцитозу, великої кількості аномальних еритроцитів (наприклад, при серповидноклітинній анемії; вираженому пойкилоцитозі). У цьому випадку аналіз гістограми еритроцитів і морфологія клітин у мазках крові становить особливий діагностичний інтерес.

Можливі помилки вимірювання MCV

Хибне підвищення	Хибне зниження
холодові аглютинини діабетичний кетоацидоз гіперосмолярність плазми гіпернатріємія високий лейкоцитоз (більше $50 \times 10^9/\text{л}$) тривале зберігання крові (більше ніж 8 годин) ретикулоцитоз макротромбоцитоз	підвищений вміст фрагментів еритроцитів у крові внаслідок механічного гемолізу коагулопатія споживання

MCV є важливим показником у диференціальній діагностиці анемії. На підставі MCV анемії поділяють на нормоцитарні (MCV 80-100фл), мікроцитарні (MCV менше 80фл) та макроцитарні (MCV більше 100фл).

MCV - показник, що відображає зміни, які виникають в еритроцитах при тривалому зберіганні крові. Зміни в мембрані еритроцитів виникають раніше, ніж у лейкоцитах та тромбоцитах, тому зберігання крові більше 8:00 викликає збільшення MCV.

MCH (*mean corpuscular hemoglobin*) – середній вміст гемоглобіну в еритроциті (пг), характеризує середній вміст гемоглобіну в окремому еритроциті в абсолютних одиницях. Розраховується за формулою:

$$MCH = \frac{\text{Гемоглобін(г/л)}}{\text{Кількість еритроцитів} \times 10^{12}}$$

У нормі MCH складає 27-31пг. MCH - більше об'єктивний параметр, ніж застарілий колірний показник, який не відображає синтез гемоглобіну і його вміст в еритроциті.

Можливі помилки виміру. Параметр MCH є розрахунковим, тому до хибно підвищених результатів призводять всі фактори, що впливають на збільшення значень гемоглобіну і зниження кількості еритроцитів.

Зміни MCH лежать в основі поділу анемії на нормохромні (MCH - 27-31 пг), гіпохромні (MCH менше 27 пг) та гіперхромні (MCH більше 31 пг). Зниження MCH спостерігається при анеміях обумовлених порушенням синтезу гемоглобіну (залізодефіцитна анемія, порфірії), підвищення - при

макроцитарних і особливо мегалобластних анеміях.

МСНС (*Mean corpuscular hemoglobin concentration*) - середня концентрація гемоглобіну в еритроциті (г/дл). Обчислюється за формулою:

$$\text{МСНС} = \frac{\text{Гемоглобін (г/дл)}}{\text{Гематокрит (\%)}} \times 100 \text{ (г/дл)}$$

Відмінності між двома останніми індексами полягають у тому, що МСН вказує на масу гемоглобіну в одному еритроциті та виражається в частках грама (пікограми). МСНС показує концентрацію гемоглобіну в одному еритроциті, тобто співвідношення вмісту гемоглобіну до об'єму клітини. Він відображає насичення еритроцита гемоглобіном і в нормі складає 30-38 г/дл. МСНС не залежить від клітинного об'єму і є чутливим показником порушення процесів гемоглобіноутворення.

Зниження значення МСНС спостерігається при захворюваннях, які супроводжуються порушенням синтезу гемоглобіну.

Підвищення МСНС вище 38 г/дл зустрічається рідко (врожений сфероцитоз), тому що це може закінчитися кристалізацією гемоглобіну і гемолізом еритроцита. Найчастіше збільшення МСНС свідчить про помилки, допущені при вимірюванні проби (похибки визначення гемоглобіну або MCV). Тому, даний параметр часто використовується у якості індикатора помилок, допущених на аналітичному або преаналітичному етапі роботи.

RDW (*Red cell distribution width*) - показник гетерогенності еритроцитів за об'ємом, що характеризує ступінь анізоцитозу. Цей показник обчислюється більшістю сучасних гематологічних аналізаторів на підставі гістограми розподілу еритроцитів, як коефіцієнт варіації об'єму еритроцитів:

$$\text{RDW} - \text{CV}(\%) = \frac{\text{SD}}{\text{MCV}} \times 100$$

де SD - стандартне середньоквадратичне відхилення об'єму еритроцита від середнього значення. На цей показник впливає MCV, тому як при мікроцитозі, так і при макроцитозі відзначається тенденція до збільшення

RDW-CV.

RDW показує варіабельність еритроцитів за об'ємом. Підвищення RDW передбачає присутність змішаної популяції клітин (нормоцити та мікроцити або макроцити та нормоцити). Анізоцитоз уловлюється приладом значно швидше, ніж при візуальному перегляді мазка крові. Оцінка ступеня анізоцитозу під мікроскопом супроводжується цілим рядом помилок. RDW характеризує коливання об'єму клітин усередині популяції, цей показник не пов'язаний з абсолютною величиною об'єму еритроцитів. Тому, за наявності в крові популяції еритроцитів зі зміненим, але досить однорідним розміром (наприклад, мікроцити), значення RDW можуть бути в межах норми (115-145%). Однак при вираженому анізоцитозі еритроцитів показник MCV, що характеризує середній об'єм всією клітинної популяції, є нормальним, а RDW буде підвищеним. Таким чином, поєднане використання двох параметрів - RDW і MCV - дозволяє точніше характеризувати зміни в периферичній ланці еритроциту.

Гістограма – це графічний розподіл різних видів клітин по їх кількості та об'єму. Для побудови гістограм гематологічні аналізатори підраховують мільйони клітин в одному зразку, сортують імпульси по амплітуді та розподіляють частинки за об'ємом від 24 до 360 фл за 256 каналами, кожен з яких відповідає об'єму частинок.

Еритроцитарна гістограма, як правило, підкоряється закону нормального (Гаусова) розподілу. Гістограма повинна починатися та закінчуватися на базовій лінії та між нижнім і верхнім дискримінатором. По горизонталі відкладається об'єм вимірюваної клітини в фл ($1\text{фл} = 10^{-15} /\text{л}$), вертикальна вісь на графіку фіксується як 100% шкала. Нормальна еритроцитарна гістограма має симетричну (куполоподібну) форму. При появі патологічних або кількох популяцій еритроцитів форма гістограми змінюється.

Ретикулоцитарні параметри. Ретикулоцити - незрілі еритроцити, містять залишки РНК і утворюються після втрати нормобластами ядер. Ретикулоцитоз з різким збільшенням фракції незрілих ретикулоцитів на тлі

активного еритропоезу вказує на підвищену регенераторну здатність кісткового мозку. Стійкий ретикулоцитоз може свідчити про постійну кровотечу. Ретикулоцитопенія - індикатор пригнічення еритропоезу. Нормалізація абсолютної кількості ретикулоцитів (RET#) – показник відновлення проліферативної активності еритрокаріоцитів

Класичні параметри ретикулоцитів:

- RET% - Відносна кількість ретикулоцитів (у %);
- RET# - Абсолютна кількість ретикулоцитів ($\times 10^9/\text{л}$).

Таблиця 7

Можливі помилки вимірювання ретикулоцитів

Хибне підвищення
<ul style="list-style-type: none"> • включення в еритроцитах (Тільця Жоллі, малярійні паразити) • високий лейкоцитоз • аномальні форми гемоглобіну • гіпертромбоцитоз • гігантські тромбоцити

Показники, що характеризують ступінь зрілості ретикулоцитів

LFR% - популяція малих зрілих RET (87-99%),

MFR% - популяція середніх RET (2-12%),

HFR% (1-2%) - популяція великих незрілих RET.

MFR+HFR визначається як фракція незрілих ретикулоцитів – **IRF** (*Immature Reticulocyte Fraction*) (2-14%). Показник є індикатором активності еритропоезу. Збільшення фракції незрілих ретикулоцитів свідчить про прискорений викид незрілих клітин із кісткового мозку. Фракція незрілих ретикулоцитів підвищується, як правило, на 2 дні раніше, чим відсоток ретикулоцитів і може служити найбільш чутливим маркером в моніторингу за станом еритропоетичної активності кісткового мозку та ефективності лікування вітаміном B₁₂, фолієвою кислотою, препаратами заліза та ЕПО.

Дослідження ретикулоцитів використовується для:

- оцінки активності еритропоезу при станах, що супроводжуються

гемолізом або крововтратою;

- детекції порушення регенераторної здатності кісткового мозку при дефіциті заліза, вітамінів В₁₂, В₆, фолатів, міді та моніторингу терапії;
- оцінки стану еритропоезу на фоні лікування еритропоетином;
- оцінки здатності кісткового мозку до регенерації після цитотоксичної терапії та трансплантації кісткового мозку;
- оцінки відновлення синтезу ЕПО після трансплантації нирки.

Тромбоцитарні параметри. PLT (*platelet*) - кількість тромбоцитів. Автоматичні лічильники крові аналізують тромбоцити та еритроцити без попередньої обробки. Це створює проблему диференціювання великих форм тромбоцитів (макротромбоцитів) і порівнюваних з ними за об'ємом еритроцитів (мікроцитів). Всі імпульси, відповідні розмірам частинок від 1,8 до 30,0 фл підраховуються як тромбоцити. Якщо частка частинок в об'ємі 30 фл перевищує запрограмоване порогове значення, на екрані відображається повідомлення «Micro RBC» або «Macro PLT». При цьому достовірність визначення кількості тромбоцитів знижена. Для більшості сучасних гематологічних аналізаторів коефіцієнт варіації показника PLT не перевищує 5%.

MPV (mean platelet volume) – середній об'єм тромбоцитів варіює від 7,4 до 10,4 фл та має тенденцію до збільшення з віком. «Молоді» кров'яні пластинки мають більший об'єм, тому при прискоренні тромбоцитопоезу середній об'єм тромбоцитів зростає. Збільшення середнього об'єму тромбоцитів спостерігається при ідіопатичній тромбоцитопенічній пурпурі, гіпертиреозі, атеросклероз, цукровому діабеті, у курців і осіб, страждають алкоголізмом, дітей з уродженими вадами серця «синього типу». Великі тромбоцити з аномальною морфологією з'являються при мієлопроліферативних захворюваннях. Зменшення цього показника відзначається після спленектомії, рецидивів хвороби Крона та неспецифічному виразковому коліті.

PDW (platelet distribution width) – ширина розподілу тромбоцитів за

об'ємом, вимірюється у відсотках (коефіцієнт варіації тромбоцитометричної кривої) і кількісно відображає гетерогенність популяції цих клітин за розмірами (ступінь анізоцитозу тромбоцитів). У нормі цей показник складає 10-20%.

Збільшення PDW одночасно зі зниженням MPV свідчить про переважання мікротромбоцитів і вказує на пригнічення тромбоцитопоезу. Поєднання підвищеного PDW зі збільшенням MPV відображає наростання числа макротромбоцитів - посилення продукції тромбоцитів. Збільшення PDW є діагностичною ознакою розвитку деструктивної тромбоцитопенії (ідіопатична тромбоцитопенічна пурпура). Збільшення PDW може спостерігатися при мієлопроліферативних захворюваннях. Зменшення PDW спостерігається у залізодефіцитній анемії.

PCT (platelet crit - тромбокрит) є параметром, котрий відображає частку об'єму цілісної крові, займану тромбоцитами, виражається в відсотках. У нормі тромбокрит складає 0,15–0,40%. PCT є чутливим показником для оцінки ризику виникнення кровотеч. Зниження параметра PCT нижче 0,1% корелює з виникненням післяопераційних кровотеч у пацієнтів розвивається тромбоцитопенією. Підвищення PCT збільшує ризик тромбозів.

Лейкоцитарні параметри. *WBC* (*white blood cells*) - кількість лейкоцитів в крові. Вимірювання числа лейкоцитів на гематологічних аналізаторах відбувається після повного лізису еритроцитів спеціальним реагентом. Всі частинки об'ємом більше ніж 35 фл вважають як лейкоцити. Коефіцієнт варіації при автоматичному визначенні цього показника складає 1-3%, в то час як при ручному підрахунку - 6,5-15% в залежності від числа лейкоцитів

Гематологічні аналізатори 3Diff, що аналізують клітини крові на основі кондуктометричної технології представляють гістограму розподілу лейкоцитів по 3 популяціям; високотехнологічні гематологічні аналізатори диференціюють лейкоцити по 5 (5Diff) популяціям і представляють ці популяції у вигляді скетогам у 3-х мірному зображенні.

Підрахунок лейкоцитарний формули Гематологічні аналізатори, які визначають 18 параметрів крові, диференціюють всі WBC на три популяції (3Diff) і визначають як відносне, так і абсолютний їх вміст:

- Лімфоцити, % - LYM% або LY%;
- Лімфоцити, кл/мкл - LYM або LY#;
- Гранулоцити, % - GRN% або GR%;
- Гранулоцити, кл/мкл - GRN або GR#;
- Моноцити, % - MON% або MO%;
- Моноцити, кл/мкл - MON або MO #.

Головною перевагою автоматичного підрахунку лейкоцитарної формули є підвищення точності результатів шляхом вимірювання великої кількості клітин в порівнянні з мікроскопічним дослідженням. Обмежене число клітин, аналізоване при підрахунку мазка крові, нерівномірний розподіл лейкоцитів в препараті, використання нестандартних методів підрахунку є головними причинами розбіжності результатів обох методів. Водночас при мікроскопічному дослідженні лікар диференціює лейкоцити не тільки за їх розмірами, а й оцінює в повному обсязі морфологію клітини (ядерно-цитоплазматичне відношення, структуру розподілу хроматину та особливості фарбування ядра, наявність зернистості в цитоплазмі), що дозволяє йому з набагато більшою точністю віднести клітину до того чи іншого виду лейкоцитів. Тому аналізатори з неповним диференційованим підрахунком лейкоцитів рекомендовано використовувати для динамічного спостереження за станом крові пацієнтів.

Гематологічні аналізатори 5 Diff здатні здійснювати диференційований підрахунок лейкоцитів по п'яти основним популяціям, з використанням різних принципів диференціювання клітин: нейтрофіли, еозинофіли, базофіли, моноцити та лімфоцити. Деякі високотехнологічні аналізатори здатні оцінювати наявність незрілих гранулоцитів, проводити оцінку стовбурових гемопоетичних клітин і субпопуляцій лімфоцитів. Використання таких приладів дозволяє підвищити точність диференціального підрахунку

лейкоцитів, провести скринінг норми та патології, динамічний контроль за лейкоцитарною формулою і різко скоротити ручний підрахунок лейкоцитарної формули, залишаючи приблизно 15-20% зразків крові для світлової мікроскопії, що пов'язано з нездатністю гематологічних аналізаторів ідентифікувати незрілі гранулоцити та бласні клітини.

Оцінка швидкості осідання еритроцитів (ШОЕ)

Швидкість осідання еритроцитів - показник, який входить в загальний аналіз крові. ШОЕ розглядається як неспецифічний тест, що змінюється залежно від цілого ряду фізіологічних та патологічних факторів. Основним фактором, визначальним ШОЕ, є Z-потенціал на еритроцитарній мембрані, що сприяє взаємному відштовхуванню еритроцитів та підтримання їх у зваженому стані. Водночас білковий склад плазми впливає на поверхневий заряд еритроцитів, білки блокують реакційні групи та цим самим змінюють ШОЕ.

Міжнародним комітетом зі стандартизації у гематології (ICSH) для визначення ШОЕ рекомендовано метод Вестергрена, при класичній постановці він проводиться на венозній крові в капілярі завдовжки 200 мм. Серійно випускаються автоматичні та напівавтоматичні аналізатори ШОЕ, які на основі кінетичних вимірювань екстраполюють результати до методу Вестергрена. У нашій країні історично більше поширеним є метод Панченкова, який ставиться на капілярі довжиною 100 мм, не автоматизований і не забезпечений системою документування результатів. Хоча метод Панченкова не дорогий і простий, він вимагає не менше 1 год для виконання, проводиться вручну. Методи Панченкова і Вестергрена в діапазоні нормальних значень (1-20 мм/год) добре корелюють між собою. Однак зі збільшенням значень ШОЕ метод Вестергрена дає вищі цифри (до 200 мм/год), це, зокрема пов'язано з тим, що метод Панченкова має вимірювальну шкалу лише до 100 мм.

Клінічне значення. Збільшення ШОЕ спостерігається при різних запальних процесах, інтоксикаціях, гострих і хронічних інфекціях, при

інфаркті міокарда, пухлинах, після крововтрати, оперативних втручань. При гострих запальних та інфекційних процесах прискорення осідання еритроцитів настає через 24 год. Виражене прискорення ШОЕ (60-80 мм/год) характерно для парапротеїнемічних гемобластозів (множина мієлому, макроглобулінемія Вальденстрема, гострий плазмобластний лейкоз та ін.) та моноклональних парапротеїнемій, супутніх злюкисним новоутворень, хронічному гепатиту, цирозу печінки, туберкульозу, амілоїдозу, колагенозів. Уповільнення ШОЕ спостерігається при еритремії та симптоматичні еритроцитози.

Дослідження пунктата кісткового мозку

Кістковий мозок отримують за допомогою аспіраційної біопсії в області грудини на рівні третього-четвертого міжребер'я або в області рукоятки грудини, а також гребеня здухвинної кістки. Кількість аспіраційної суспензії клітин залежить від об'єму та характеру передбачуваних досліджень. Для діагностичних цілей достатньо 0,1-0,2 мл, проте для проведення додаткових досліджень (цитогенетичних, імунологічних, культуральних) потрібно кілька мілілітрів кісткового мозку.

Нормальний кістковий мозок кров'яний, містить невелику кількість дрібних білуватих грудочок. Для отримання хороших препаратів необхідно позбавитися від домішок крові в отриманій суспензії, кількість якої може бути різною. Враховуючи підвищене згортання кісткового мозку, мазки необхідно робити швидко.

Лікар, який виконує пункцію, поміщає весь отриманий пунктат (не більше 0,5 мл) в пробірку, яка містить 1-1,5 мг K_2EDTA , ретельно її перемішує, маркує і негайно відправляє матеріал в лабораторію разом з бланком-направленням. Наступний етап з приготування препаратів з пунктата кісткового мозку проводиться в лабораторії відразу після надходження матеріалу.

З отриманих або приготовлених безпосередньо в лабораторії 10 мазків для цитологічного дослідження відбираються 5, інші 5 мазків призначені для

цитохімічного дослідження клітин кісткового мозку. На першому етапі фіксуються і фарбуються 3 мазки, якщо ситуація вимагає (при первинному обстеженні пацієнта, важко зробити цитологічний висновок за наявності великої кількості бластів) додатково обробляються і вивчаються решта мазків.

Мікроскопічне дослідження кісткового мозку (Мієлограма).

Дослідження кісткомозкових елементів - *мієлограма* - відображає клітинність кісткового мозку, процеси проліферації та диференціювання окремих паростків кровотворення, його клітинний склад та функціональний стан. Характеристика кісткомозкового кровотворення включає:

- підрахунок клітинності кісткового мозку; відсоткового складу мієлокаріоцитів; індексів мієлограми;
- опис мієлограми та морфологічних особливостей клітинних елементів гемопоєзу.

Підрахунок мієлокаріоцитів в пофарбованих мазках кісткового мозку.

Кількість мієлокаріоцитів вважається нормальним, якщо при перегляді препарату з імерсійним об'єктивом у кожному полі зору зустрічається 15-25 мієлокаріоцитів. При кількості мієлокаріоцитів менше ніж 15 у полі зору, кістковий мозок оцінюється як гіпоклітинний, більше ніж 25 - гіперклітинний.

Підрахунок мієлокаріоцитів у лічильній камері Фукса-Розенталя. Для цього використовується завесь кісткового мозку в розведенні 1:20. Підрахунок мієлокаріоцитів проводиться по всією сітці камери Фукса-Розенталя.

Кількість клітин розраховують по формулі:

$$X = \frac{n \cdot 20}{3,2},$$

де X - кількість мієлокаріоцитів 1 мкл; n – кількість мієлокаріоцитів по всій камері; 20 - розведення кісткового мозку; 3,2 мкл – об'єм камери Фукса-Розенталя.

Референтні величини: кількість мієлокаріоцитів становить $50,0 \times 10^6$ - 150×10^6 в 1 л.

Підрахунок мегакаріоцитів в пофарбованих мазках кісткового мозку.
Підрахунок мегакаріоцитів у забарвлених мазках кісткового мозку проводиться під малим збільшенням. Препарат проглядається в області щіточки, де переважно концентруються мегакаріоцити. Кількість у препараті понад 3-4 мегакаріоцити вважається нормальним. Обчислюється відсоткове співвідношення кожного виду клітин. Додаткову інформацію для оцінки кісткомозкового кровотворення отримують при розрахунку наступних індексів: лейкоеритробластичне співвідношення (Л/Е), індекс дозрівання нейтрофілів (ІДН), індекс дозрівання еритрокаріоцитів (ІДЕ).

Лейкоеритробластичне співвідношення (Л/Е). Індекс визначає співвідношення всіх клітин білого паростка (гранулоцитарного, моноцитарного та лімфоїдного) до ядромістких клітин еритроїдного ряду. У нормі співвідношення дорівнює 2,1-4,5. Підвищення індексу при нормальній або підвищеній клітинності пунктата кісткового мозку розцінюється як гіперплазія клітин білого паростка (лейкопоезу). При зниженій клітинності кісткового мозку – як звуження еритроїдного паростка. Зниження індексу при високій клітинності кісткового мозку є ознакою гіперплазії клітин червоного ряду; при зниженій клітинності кісткового мозку – ознакою пригнічення проліферації клітин (звуження) білого паростка (лейкопоезу). Зміни індексу Л/Е при різних захворюваннях представлені в табл. 8.

Таблиця 8

Зміни лейкоеритробластичного індексу

Зміни індексу	Клітинність кісткового мозку	Характер зміни гемопоеза	Захворювання
Л/Е ↑	Нормальна або висока	Гіперплазія білого паростка	Сепсис, хронічний мієлолейкоз, хронічний лімфолейкоз та ін.
	Низька	Редукція червоного паростка	Апластична анемія, парціальна червоноклітинна аплазія та ін.

Л/Е ↓	Нормальна або висока	Гіперплазія червоного паростка	Гемолітичні анемії, залізодефіцитна анемія, мегалобластні анемії та ін.
	Низька	Редукція білого паростка	Агранулоцитоз та ін.

Індекс дозрівання нейтрофілів (ІДН). Індекс відображає співвідношення незрілих і зрілих нейтрофілів кісткового мозку.

$$ІДН = \frac{\text{ПроМЦ} + \text{МЦ} + \text{МетаМЦ}}{\text{П/Я} + \text{С/Я}}$$

де ПроМц - промієлоцити; Мц - мієлоцити; МетаМц – метамієлоцити;
П/Я – паличкоядерні нейтрофіли; С/Я - сегментоядерні нейтрофіли.
У нормі співвідношення складає: 0,5-0,9.

Підвищення ІДН при нормальній або високій клітинності кісткового мозку свідчить про затримку дозрівання нейтрофілів, при зниженій – про підвищену елімінацію зрілих нейтрофілів з кісткового мозку.

Зниження ІДН при підвищеній клітинності кісткового мозку вказує на затримку виходу зрілих нейтрофілів; при бідному кістковому мозку - на розведення його периферичною кров'ю.

При високому ступені розведення пунктата периферичною кров'ю неможливо адекватно оцінити кістковомозкове кровотворення хворого.

Індекс дозрівання еритрокаріоцитів (ІДЕ). Показує співвідношення гемоглобінізованих еритрокаріоцитів (поліхроматофільних і оксифільних) до всіх клітин еритроїдного ряду:

$$ІСЕ = \frac{\text{Поліхромат . нормобласти} + \text{оксифільні нормобласти}}{\text{Загальна кількість еритрокаріоцитів}}$$

Нормальні значення: **0,8-0,9**.

Зниження ІДЕ відображає затримку гемоглобінізації (гіпохромні анемії) або збільшення кількості молодих форм еритрокаріоцитів (дизеритропоетичні анемії).

Після диференційованого підрахунку оцінюються морфологічні особливості клітин, кінетика дозрівання і складається висновок по

мієлограмі загалом, при обов'язковому зіставленні з показниками гемограми.

Рекомендований бланк по клітинному складу кісткового мозку представлений у табл. 9.

Під цифровою частиною бланка знаходиться описова частина з висновками. Перш ніж зробити остаточний висновок про стан кісткового мозку, необхідно співвіднести отримані дані з нормою і з результатами дослідження периферичної крові. У ряді випадків необхідно вирішити, чи не розведений кістковий мозок кров'ю, оскільки за препаратом, який сильно розведений периферичною кров'ю, неможливо правдиво оцінити кістково-мозкове кровотворення. У таких випадках рекомендується повторна пункція.

У описовій частині звертають увагу на наступні моменти:

- *клітинність* кістково-мозкового пунктату;
- *клітинний склад* - мономорфний або поліморфний; якщо мономорфний, то якими клітинами представлений в здебільшого (бласними, лімфоїдними, плазматичними та інш.) або відзначається тотальна метаплазія;
- *тип кровотворення* (нормобластичний, мегалобластичний, змішаний), якщо є мегалобластичні елементи, вказати у відсотках;
- *значення лейко-еритробластичного індексу* , у разі відхилення від норми – пояснити, за рахунок яких елементів.

Таблиця 9

Клітинний склад кісткового мозку

Клітинні елементи		Зміст, %	
		Середні значення	Межі коливань
Бласти		0,6	0,1-1,1
Мієлобласти		1,0	0,2-1,7
Нейтрофільні	промієлоцити	2,5	1,0-4,1
	мієлоцити	9,6	6,9-12,2
	метамієлоцити	11,5	8,0-14,9
	паличкоядерні	18,2	12,8-23,7
	сегментоядерні	18,6	13,1-24,1
Всі нейтрофільні елементи		60,8	52,7-68,9

Еозинофіли всіх генерацій		3,2	0,5-5,8
Базофіли всіх генерацій		0,2	0,0-0,5
Еритробласти		0,6	0,2-1,1
Пронормобласти		0,6	0,1-1,2
Нормобласти:	базофільні	3,0	1,4-4,6
	поліхроматофільні	12,9	8,9-16,9
	оксифільні	3,2	0,8-5,6
Всі еритроїдні елементи		20,5	14,5-26,5
Моноцити		1,9	0,7-3,1
Лімфоцити		9,0	4,3-13,7
Плазматичні клітини		0,9	0,1-1,8
Кількість мієлокаріоцитів (у тис. в 1 мкл)		118,4	41,6-195,2
Лейко-еритробластичне ставлення		3,3	2,1-4,5
Індекс дозрівання нейтрофілів		0,7	0,5-0,9
Індекс дозрівання еритрокаріоцитів		0,8	0,7-0,9

Висновок реєструється на паперових і електронних носіях, які зберігаються у лабораторії протягом 20 років. Бланки з результатами цитологічного дослідження включаються в історію хвороби, при використанні інформаційно-обчислювальних систем висновки вводяться в "електронну" історію хвороби. Пофарбовані мазки кісткового мозку архівуються і зберігаються в протягом 20 років. Видають препарати з архів тільки за письмовим запитом лікаря або іншого відповідального співробітника лікувально-профілактичного закладу.

Клініко-діагностичне значення дослідження мієлограми.

Цитологічне вивчення пунктата кісткового мозку дозволяє судити про клітинність кісткового мозку, проліферативну активність, диференціювання і лейкоеритробластичне співвідношення, а також про морфологію гемопоетичних клітин. Правильна оцінка стану кісткомозкового кровотворення можлива лише при зіставленні даних мієлограми та гемограми, оскільки часто активна проліферація кровотворних клітин у кістковому мозку може супроводжуватися цитопенією через підвищену деструкцію клітин або затримку їх дозрівання й елімінації з кісткового мозку.

Пухлини кровотворних органів супроводжуються проліферацією в кістковому мозку лейкозних клітин при одночасній редукції інших паростків кровотворення. При гострих лейкозах в мієлограмі відзначається зсув до

бластних клітин, відсоток яких визначає наявність гострого лейкозу (>20%) або одного з варіантів мієлодиспластичного синдрому (МДС) (<20%). У процесі лікування аналіз мієлограми є одним з необхідних досліджень, що дозволяє судити про досягнення повної ремісії (<5% бластних клітин) або про розвиток кістковомозкового рецидиву (>5% бластів).

При пухлинних захворюваннях гранулоцитарного паростка клітини можуть мати морфологічні особливості: пельгеризацію чи гіперсегментацію ядер, кільцеподібність ядер, зниження або відсутність гранул, гіпергранулярність і базофілію цитоплазми. Одночасне зіставлення даних мієлограми та гемограми дозволяє судити про характер патологічного процесу. Наявність активного гранулоцитарного паростка в кістковому мозку та лейкопенії свідчить про швидку елімінацію гранулоцитів з судинного русла в тканини, що може спостерігатися при абсцесах, важких запальних захворюваннях. Розширений гранулоцитарний паросток на тлі лейкоцитозу з нейтрофіліозом або зсувом вліво до метамієлоцитів або мієлоцитів - свідчить про збереження кістковомозкового гранулоцитарного резерву, за рахунок якого і спостерігаються зміни у гемограмі. Водночас, така картина крові може мати місце і при мієлопроліферативних захворюваннях (хронічний мієлолейкоз, сублейкемічний мієлоз), для підтвердження яких необхідно залучення цитохімічних досліджень (активності лужної фосфатази, мієлопероксидази). Можливо зменшення гранулоцитарних клітинних елементів в кістковому мозку з затримкою їх дозрівання на стадії промієлоциту, мієлоциту або метамієлоциту при агранулоцитозі.

Збільшення клітин лімфоцитарного паростка може спостерігатися при лімфопроліферативних захворюваннях, вірусних і аутоімунних процесах. Морфологічними особливостями цих клітин є: анізоцитоз клітин і їх ядер, розщеплені ядра, неправильний контур ядерної мембрани, високе ядерно-цитоплазматичне співвідношення, звивистість, мозковидність ядер. З метою диференціальної діагностики пухлинних та реактивних лімфоцитозів необхідно використовувати методи імунофенотипування.

Гіперплазія клітин еритроїдного паростка зі зниженим лейкоеритробластичним співвідношенням може бути парціальною або тотальною й супроводжуватися різними змінами в гемограмі. *Мегалобластичний тип кровотворення* характерний для В₁₂-дефіцитної та фолієводефіцитної анемії, але може бути в період кризи гемолітичної анемії, а в поєднанні зі збільшенням числа лімфоцитів, плазмоцитів і мегакаріоцитоз можливий при цирозі печінки. Уповільнення синтезу ДНК веде до зупинки мітозів на більш ранніх фазах клітинного циклу, порушення синхронності дозрівання ядра і цитоплазми клітини та гемоглобінізації. При мегалобластичному кровотворенні у кістковому мозку відзначається високий неефективний гемопоез. Основна маса мегалобластів руйнується в кістковому мозку і лише невелика їх частина дозріває до мегалоцитів, які надходять у кров. Ступінь неефективного кісткомозкового еритропоезу, можна оцінити при цитохімічному дослідженні за накопиченням PAS-позитивної речовини в еритрокаріоцитах або за підвищенням кількості сидеробластів.

Різке збільшення кількості еритрокаріоцитів в кістковому мозку може спостерігатися при гемолітичних анеміях, особливо в період кризи, залізодефіцитній анемії, гострому еритромієлозі, деяких варіантах мієлодиспластичного синдрому (МДС). Морфологічні особливості еритрокаріоцитів (багатоядерні еритробласти, каріорексис, асинхронне дозрівання ядра та цитоплазми, міжядерні містки, потворність ядер та ін) дозволяють судити про ступінь виразності дисеритропоезу, що має значення в диференціальній діагностиці МДС з іншими захворюваннями.

Наявність макрофагів з гранулами гемосидерину свідчить про наявності запасів заліза в кістковому мозку. Дослідження сидеробластів в кістковому мозку дає корисну інформацію для оцінки адекватності накопичення заліза в організмі. Виснаження запасів заліза відбувається при залізодефіцитній анемії та супроводжується зниженням кількості сидеробластів. Надмірне накопичення заліза спостерігається при ідіопатичному і набутому

гемохроматозі, хронічній гемолітичній анемії, таласемії та МДС, що призводить до збільшення числа сидеробластів. Зниження еритрокаріоцитів спостерігається при гострих та хронічних лейкозах, гіпопроліферативній стадії ЗДА, апластичній анемії, парціальній червоноклітинній апластичній анемії.

Гіперплазія мегакаріоцитів можлива при мієлопроліферативних процесах, в том числі при ідіопатичній тромбоцитемії, МДС або трансформації його в гострий лейкоз, метастазах злюккісних новоутворень в кістковий мозок, ідіопатичній або імунній та аутоімунній тромбоцитопенії. Зменшення кількості мегакаріоцитарних елементів часто супроводжує апластичним, імунним та аутоімунним процесам, променевої хвороби, гострим лейкозам, мієломній хворобі, В₁₂-дефіцитній анемії, а також може спостерігатися при метастазах раку в кістковий мозок з остеосклерозом кісткової тканини.

Гіпо- або апластичний кістковий мозок з низьким лейкоеритробластичним індексом може мати місце при впливі лікарських препаратів, хімічних речовин, іонізуючого випромінювання, цитостатичної терапії, ендокринних захворюваннях (акромегалія, гіпотиреоз), важких авітамінозах, загальним виснаженням.

Цитохімічні дослідження гемопоетичних клітин

Мієлопероксидаза . Мієлопероксидаза (МПО) є ферментом - лізосомальною каталазою, що каталізує в присутності перекису водню (Н₂О₂) окислення різних субстратів. МПО локалізується переважно в специфічних азурофільних гранулах в цитоплазмі гранулоцитів і є маркером клітин мієлоїдного ряду. У клітинах МПО бере участь в реакції руйнування токсичною перекису водню. МПО виявляється в клітинах гранулоцитарного ряду, починаючи з мієлобласта. Активність ферменту наростає по мірі дозрівання клітин. У сегментоядерних нейтрофілах здорових людей виявляється висока активність МПО в вигляді гранул, що заповнюють цитоплазму.

Сама висока активність ферменту спостерігається в зрілих еозинофіли. У базофільних промієлоцитах та мієлоцитах активність МПО, як правило, висока, однак, у міру диференціювання їх у зрілі клітини активність ферменту знижується. Зрілі базофіли можуть бути майже негативні за цією ознакою. Слабкопозитивна реакція на МПО спостерігається в різному відсотку моноцитів в вигляді нечисленних розсіяних гранул. У еритрокаріоцитах, лімфоцитах, базофілах і мегакаріоцитах МПО не визначається.

Референтні величини. У крові здорових людей 3-16% нейтрофілів пофарбовані в реакції на МПО різко позитивно, 60-90% - позитивно, інші - Слабо позитивно.

Клінічне значення. Цитохімічне визначення МПО використовується головним чином для діагностики гострих лейкозів. При гострих мієлобластних лейкозах активність ферменту в пухлинних клітинах варіює від помірною до вираженою в залежності від ступеня диференціювання бластів. Так, при гострих мієлобластних лейкозах з низьким ступенем диференціювання (М₁ за ФАБ класифікації) кількість МПО-позитивних бластів невелико (не перевищує 10%), активність ферменту в них невисока. У той же час при гострому промієлоцитарному лейкозі (М₃ по ФАБ класифікації) МПО виявляється практично у 100% бластних клітин та активність її рівноцінна такою у зрілих нейтрофілах. При гострих монобластних лейкозах реакція на МПО у пухлинних клітинах слабка, при гострих лімфобластних лейкозах - негативна.

Ліпіди. У гемопоетичних клітинах ліпіди розпорошені в вигляді тонкодисперсних утворень, які невиразні у світловому мікроскопі без спеціальною фарбування. Стабільні і добре відтворювані результати для дослідження гемопоетичних клітин виходять при застосуванні методу з суданом чорним Б. Ліпіди виявляються практично во всіх лейкоцитах за винятком лімфоцитів. Однак основна маса ліпідів пов'язана з клітинами гранулоцитарного ряду. Вони входять до складу специфічної зернистості

нейтрофільних гранулоцитів, еозинофіли і накопичуються в міру дозрівання клітин. У мієлоблестах зазвичай є мізерне кількість гранул, локалізуються в перинуклеарної зони, в промієлоцитах їх стає дещо більше, мієлоцитах і метамієлоцитах зміст суданофільних гранул висока. У зрілих нейтрофілах ліпіди заповнюють всю цитоплазму.

На всіх стадіях дозрівання еозинофілів виявляються ліпіди по периферії специфічних гранул з незабарвленою або слабо забарвленою центральною зоною. Більшість незрілих базофілів дають позитивну реакцію, у міру дозрівання клітин вміст ліпідів у них знижується. Реакція в зрілих базофілах варіабельна - від слабо позитивною до негативною. У моноцитах і їх попередниках часто міститься різне число дрібних або помірно великих гранул, розподілених по всій клітині з деякою тенденцією до концентрування в перинуклеарній зоні або обідку цитоплазми. У тромбоцитах, як і мегакаріоцитах, ліпіди, як правило, не виявляються. Еритрокаріоцити, ретикулоцити і зрілі еритроцити не містять суданофільних гранул.

Референтні величини : більшість нейтрофілів (69-80%) у здорових людей фарбуються барвниками на ліпіди інтенсивно, 18-36% середньої інтенсивності та 10% слабо пофарбовані. СЦК у нейтрофілах $2,65 \pm 0,33$.

Середній цитохімічний коефіцієнт (СЦК) обчислюють по формулі:

$$СЦК = \frac{1a + 2b + 3v + 4z}{100},$$

де цифри (1, 2, 3, 4) позначають інтенсивність фарбування; літери (а, б, в, г) - число підрахованих клітин з певною інтенсивністю забарвлення (цитохімічної реакції). Метод напівкількісної оцінки є орієнтовним, але дозволяє порівняти розподіл досліджуваних речовин в різних клітинних елементах або в одних і тих же клітинах при тих чи інших патологічних станах.

Клінічне значення. Особливе значення реакція з чорним суданом Б має при диференціальній діагностиці гострих лейкозів. Зазвичай ліпіди

виявляються паралельно з мієлопероксидазою, але можуть виявлятися і в менше зрілих мієлобластах в відсутності МПО, тобто. є більше чутливим маркером мієлоїдного диференціювання. Відповідно до ФАБ-класифікацією при діагностиці гострих лейкозів для підтвердження мієлоїдної природи бластів необхідно виявлення 3% і більше бластних клітин позитивних по МПО та/або ліпідам.

Зменшення суданофілії з появою окремих сегментоядерних нейтрофілів, не містять ліпіди, відзначається при хронічному мієлолейкозі (ХМЛ).

PAS-реакція. Механізм PAS-реакції заснований на окисленні йодної кислотою гліколевих груп до альдегідів. Альдегідні угруповання при взаємодії з реактивом Шиффа утворюють продукт червоного кольору.

Мукополісахариди (Глікозамінглікани) визначаються во всіх морфологічно ідентифіковані клітини гранулоцитарного ряду у вигляді PAS-позитивного матеріалу, концентрація якого наростає в міру дозрівання клітин. Дифузне фарбування цитоплазми зазвичай властиво найбільш молодим клітинам - мієлобластам, промієлоцитів, мієлоцитів. У зрілих нейтрофілах міститься багато PAS-позитивного речовини в вигляді дрібних гранул. У зрілих еозинофілах і базофілах специфічні гранули залишаються незабарвленими і різко виділяються на фоні дифузного фарбування PAS-позитивного матеріалу цитоплазми У моноцитах PAS-позитивний матеріал частіше виявляється в вигляді дрібної пилоподібний зернистості на тлі слабо рожевого дифузного фарбування. на всіх стадіях диференціювання клітин еритроїдного рядумукополісахариди не виявляються. У лімфоцитах концентраціямукополісахаридів менше, чим в гранулоцитах. У нормі 10-40% лімфоцитів периферичної крові містять PAS-позитивний матеріал, розташований в вигляді гранул навколо ядра.

Референтні величини : в 95-100% нейтрофілів PAS-реакція виявляється у дифузній формі. СЦК - 2,09-2,99. Від 2 до 33% лімфоцитів містять PAS-позитивне речовина в гранулярної формі. У 3-8% еритрокаріоцитів кісткового мозку визначається PAS-реакція.

Клінічне значення. При діагностики гострих мієлобластних лейкозів бласні клітини можуть бути або PAS-негативні, або виявляти слабодифузне фарбування цитоплазми. Яскраве дифузне фарбування цитоплазми спостерігається тільки при гострий промієлоцитарному лейкозі. При гострий лімфобластному лейкозі (ГЛЛ) бласти містять глікоген у цитоплазмі у вигляді середніх та великих гранул, розташовуються віночком навколо ядра, іноді зливаються в блоки. Кількість клітин з таким характером PAS-реакції сильно варіює при різних випадках ГЛЛ.

Неспецифічні естерази. Терміном «естераза» або «неспецифічна естераза» позначають ферменти, здатні гідролізувати прості ефіри N-вільних спиртів та органічних кислот. всі неспецифічні естерази є лізосомальними ферментами. Відомо кілька видів естераз або ізоферментів естераз у клітинах крові людини.

- Нафтилацетатестераза виявляється во всіх клітинах мієлоїдного ряду, починаючи з мієлобласта. Активність її виявляється в еозинофілах поза всякий зв'язку з їх специфічною зернистістю, в невеликому числі лімфоцитів, еритрокаріюцитах, мегакаріюцитах і тромбоцитів. Найінтенсивнішу реакцію дають моноцити та макрофаги. Використання в якості субстрату нафтил-AS або AS-D-ацетату дає позитивний результат в більшості клітин, але особливо висока активність виявляється у моноцитах. Активність неспецифічної естерази у клітинах моноцитарного ряду легко пригнічується фторидом натрію, але не пригнічується в гранулоцитах. Цей феномен дозволяє відрізнити клітини системи мононуклеарних фагоцитів від клітин інших паростків кровотворення, що володіють активністю неспецифічною естерази. Нафтил-AS-D-хлорацетат-естераза виражена в клітинах гранулоцитарного і Відсутнє в клітинних елементах моноцитарного і лімфоцитарного - нафтилацетатестераза рано виявляється в процесі диференціювання T-лімфоцитів і локалізується у вигляді фокальної плями цитоплазмі цих клітин.

Неспецифічна естераза (HE) - використання в якості субстрату - нафтилацетату дозволяє виявити різко позитивну реакцію переважно в

моноцитах; активність неспецифічною естерази в моноцитів пригнічується фторидом (NaF), а в гранулоцитах не пригнічується. Клінічне значення. Визначення активності неспецифічної естерази використовується для ідентифікації лейкозних моноцитарних попередників. Ці клітини проявляють високу активність неспецифічною естерази з субстратами бутират, ацетат і AS-D-ацетат, яка в значною ступеня інгібується фторидом натрію. Реакції на нафтол-AS-D-хлорацетатестеразу за надійністю виявлення гранулоцитарної спрямованості диференціювання порівняння -нафтилацетатестеразу є найбільш достовірною для ідентифікації монобластного та моноцитарного типів лейкозів.

Кисла фосфатаза. Кисла фосфатаза (КФ) утворюється в ендоплазматичній мережі метаболічно активних клітин. Найбільш висока активність спостерігається в плазматичних клітинах, мегакаріюцитах, тромбоцитах, моноцитах та макрофагах, гранулоцитарних попередниках. За міри дозрівання клітин нейтрофілів і еозинофільного рядів активність КФ знижується. КФ в здебільшого локалізується в первинних гранулах і відсутня в вторинних. Зрілі нейтрофіли і еозинофіли мають низькою ферментативної активністю, або вони позбавлені її. У лімфоцитах активність КФ дуже варіабельна. Позитивна забарвлення проявляється у плазматичних клітинах, Т-лімфоцитах і особливо бластних клітинах при Т-клітинному гострий лімфобластному лейкозі, плазмоцитомі, волосатоклітинний лейкоз (ВКЛ). Зниження активності КФ у лімфоцитах відзначається при ХЛЛ і неходжкінських злоякісних лімфомах, збільшення – при інфекційному мононуклеозі.

Клінічне значення. Визначення активності КФ має значення в діагностики волосатоклітинного лейкозу (ВКЛ) Часто при ВКЛ у клітинах виявляється тартратрезистентна кисла фосфатаза (Ізофермент 5). Активність КФ у лімфоцитах при лімфомі маргінальної зони селезінки низька чи відсутня.

Лужна фосфатази. Активність лужний фосфатази (ЛФ) властива лише

зрілим клітинам гранулоцитарного ряду, переважно нейтрофілів. Зрідка в еозинофілах має місце фонова забарвлення цитоплазми, але не гранул. Базофіли не містять ЛФ як у нормі, так і при патологічних станах. У лімфоцитах, моноцитах, еритроцитах і тромбоцитах реакція на ЛФ негативна.

Клінічне значення. Визначення активності лужної фосфатази (СЦК) застосовується для диференціації хронічного мієлолейкозу (ХМЛ) від інших мієлопроліферативних захворювань та реактивних змін у гемограма. Активність ЛФ збільшується при істинною поліцитемії, ідіопатичному мієлофіброзе, бактеріальних інфекціях і різко знижуються при ХМЛ. Низькі показники ЛФ майже завжди виявляються при Ph-позитивному ХМЛ, а також при Ph-негативним ювенільному ХМЛ. Лише гемолітична і залізодефіцитна анемії або деякі вірусні захворювання показують порівняно низький СЦК. У хворих з ХМЛ в період ремісії може відзначати нормальна або навіть підвищена активність ЛФ.

Забарвлення на сидеробласти. Сидеробласти і сидероцити - це нормобласти (еритробласти) і еритроцити, містять в цитоплазмі негемоглобінове залізо у вигляді гранул. Якщо гранули вільного заліза численні, грубі і розташовуються навколо ядра, утворюючи кільце, то такі клітини називаються «кільцеподібними сидеробlastами».

З'єднання заліза зазвичай не виявляються в лейкоцитах, тоді як виявлення їх в еритрокаріоцитах інформативно для вивчення неефективного еритропоезу та діагностики деяких варіантів МДС. При цих захворюваннях залізо, що надходить в еритробласти, не використовується для синтезу гемоглобіну та відкладається в еритрокаріоцитах, у кістковомозкових макрофагах в вигляді гемосидерину або феритину. Дослідження сидеробlastів в кістковому мозку дає корисну інформацію для оцінки адекватності накопичення заліза в організм.

Клінічне значення. Виснаження запасів заліза відбувається при залізодефіцитної анемії і супроводжується зниженням кількості сидеробlastів. Надмірне накопичення спостерігається при ідіопатичному та

набутому гемохроматозі, хронічної гемолітичної анемії, таласемії та МДС, що призводить до збільшення числа сидеробластів. При діагностиці МДС характерною ознакою РАКС (рефрактерної анемії з кільцеподібними сидеробластами) є присутність в кістковому мозку більше 15% кільцеподібних сидеробластів.

Оцінка результатів цитохімічних реакцій. Значення цитохімічних реакцій в онкогематології. Основне застосування цитохімічні методи знаходять в діагностики гемобластоз. Використання стандартною панелі цитохімічних методів - МПО, ліпідів, PAS-реакції, реакції на неспецифічну естеразу - в більшості випадків буває достатньою для виявлення лінійної приладдя пухлинних клітин, і таким чином для визначення варіанти гострих лейкозів та бластного кризу при хронічному мієлолейкозі (ХМЛ). У деяких випадках цитохімічні реакції дозволяють визначити приналежність клітин до пухлинному клону (Визначення тартрат-резистентний фракції кислий фосфатази при волосатоклітинному лейкозі).

Цитохімічні реакції в онкогематології використовуються для:

- встановлення варіанти гострого лейкоза і бластного криза ХМЛ;
- диференціальної діагностики ідіопатичного мієлофіброзу (сублейкемічного мієлоза) та ХМЛ;
- діагностики волосатоклітинного лейкозу та лімфоми селезінки з відростчастими лімфоцитами;
- виявлення особливостей метаболізму лейкозних клітин

Цитохімічними маркерами бластів гранулоцитарного ряду є МПО, ліпіди і AS-D-хлорацетатестераза. Зміст цих ферментів вмієлобластах сильно варіює. У деяких випадках може виявлятися 1 або 2 з перерахованих маркерів (частіше ліпіди). Тому, для уникнення помилкового висновку при отриманні сумнівного результату реакції необхідно проведення двох реакцій. Активність AS-D-хлорацетатестерази суттєво нижче, чим активність МПО, тому визначення цього ферменту представляє меншу діагностичну цінність. Слід враховувати, що активність МПО у дітей віком до 15 років та пацієнтів

віком від 60 років нижче, чим у осіб середнього віку.

Для ідентифікації монобластів головну роль грає визначення неспецифічною естерази, пригнічуваної фторидом натрію. Для лімфобластів характерно наявність негативної реакції на МПО і позитивної PAS-реакції в гранулярній формі.

Оцінка активності ферментів в клітці можлива з використанням комп'ютерного аналізу зображення. Застосування комп'ютерного методу в цитохімії дозволяє об'єктивізувати дослідження, перейти від описового методу оцінки ферментів у клітинах до напівкількісних вимірів.

Проточна цитофлюориметрія, її діагностичне значення

Проточна цитометрія - сучасна технологія швидкої оцінки частинок або клітин в процесі їх просування в потоці рідини. Використання кількох флюоресцентних міток дозволяє проводити одночасно багатобарвний аналіз, коли кожен флюорохром при проходженні через промінь лазера випускає світло однієї довжини хвилі. Основними завданнями проточної цитометрії є кількісна і функціональна характеристика клітин з характеристикою:

- поверхневі антигени;
- внутрішньоклітинні цитоплазматичні молекули - цитокіни, бактерицидні білки, сигнальні молекули, білки цитоскелета);
- внутрішньоклітинні ядерні молекули (транскрипційні фактори, ядерні білки, ДНК і її фрагменти, РНК, хромосоми, мембранний потенціал мітохондрій, концентрація іонів кальцію, активність ферментів і т.д.);
- продукція цитокінів;
- оцінка абсолютного числа CD4+ Т-лімфоцитів в стадіювання течії ВІЛ-інфекції.

Проточна цитофлюориметрія грає ключову роль онкогематології . Вона використовується з метою діагностики та моніторингу пухлинний популяції при гострих лейкозах і лімфопроліферативних захворюваннях (ЛПЗ), прогнозу, підрахунку абсолютного кількості стовбурових гемопоетичних клітин, використовуваних для наступної аутотрансплантації,

діагностики пароксизмальної нічний гемоглобінурії.

Основні діагностичні можливості імунофенотипування в онкогематології представлені в табл. 10.

Таблиця 10

Можливості проточний цитофлюориметрії

Клінічне значення	Потенційні можливості
Діагностика ГЛЛ і ГМЛ (M0, M6, M7); біфенотипного гострого лейкоза	Ідентифікація варіантів гострих лейкозів з несприятливим прогнозом
Діагностика та диференціальна діагностика В-клітинних лімфопроліферативних захворювань (ЛПЗ)	Виявлення мінімальної залишковою хвороби при гострих лейкозах та ЛПЗ
Діагностика Т-клітинних ЛПЗ	Підрахунок гемопоетичних стовбурових клітин пуповинної і периферичної крові, кісткового мозку

На основі концепції відповідності фенотипу злоякісної клітини фенотипу нормального клітинного аналога на кожному рівні диференціювання представилося можливим виділити ряд імунологічних варіантів (фенотипів), визначальних клітинну природу лейкозів, рівень блоку диференціювання клітини в лейкемічній популяції. У більшості випадків гострих лейкозів бласти мають імунофенотип, порівнянний з нормальними гемопоетичними клітинами аналогічних стадій диференціювання. При ГЛЛ та ГМЛ бластні клітини розглядаються як злоякісні аналоги нормальних клітин на ранніх стадіях лімфо- та мієлопоезу. За набором мембранних та цитоплазматичних антигенів можна, можливо встановити лінійну приналежність, стадію диференціювання і функціональне стан клітини. Виділяють:

- лінійно не обмежені (не рестриковані) антигени - їх експресія не обмежена однією клітинною лінією. Це CD34, CD38, HLA- DR, TdT;
- лінійно-асоційовані (лінійно-специфічні) антигени - специфічно експресуються на деяких лініях мієлоїдний (CD13, CD33, CD117, CD65, МПО, CD14, CD15, CD41, CD42, CD61 і тощо) або лімфоїдний диференціювання (CD19, CD22, cIg, sIg, CD5, CD3 та тощо);
- диференціувальні антигени - відбивають стадії диференціювання

клітин (цитоплазматичний IgM , , -легкі ланцюги Ig, CD34, CD10, CD1a);

•активаційні антигени - відбивають активацію клітин (CD25, CD38, HLA-DR).

Диференціювальні антигени можуть виявлятися на злоякісних клітин у комбінаціях, які дуже рідко зустрічаються або не виявляються в нормальному кістковому мозку.

Лейкемічні клітини можна відрізнити від їх нормальних аналогів за ряду критеріїв. До основним типам фенотипу лейкозних клітин відносяться:

• коекспресія антигенів кількох ліній, тобто. лімфоїдних маркерів при ГМЛ або мієлоїдних маркерів при ГЛЛ;

• асинхронна експресія антигену - одночасна експресія «раннього» та «пізнього» антигенів, які в нормі перебувають на різних етапах диференціювання клітин, наприклад, CD34 та CD15; CD15 і CD117;

• надекспресія антигену - щільність розподілу антигенів на лейкозній клітці більше, чим на нормальною клітці кісткового мозку (наприклад, гіперекспресія CD10 при ВІІ ГЛЛ);

• відсутність або низький рівень експресії антигену, характерного для даної стадії диференціювання - втрата клітиною ряду поверхневих антигенів, наприклад, втрата CD33 спостерігається в 21% випадків ГМЛ;

• фенотипічний профіль, що практично не зустрічається в нормі. Змінена експресія антигенів відображає генетичні порушення, лежачі в основі пухлинного переродження клітини, дозволяючи виявляти атипові клітини навіть при щодо невеликому їх змісті в зразок. Подібний імунофенотип лейкозній клітини дозволяє проводити моніторинг за залишковою пухлинною популяцією у процесі хіміотерапії. Проточна цитофлюориметрія дозволяє досліджувати антигени, мають прогностичне значення, наприклад, CD38, ZAP-70, CD31 при В-клітинному хронічному лімфолейкозі. Широке використання в клінічній практиці моноклональних антитіл (мабтера, кемпас, люміксимаб і ін) значно покращило результати лікування хворих лімфом. Для їх успішного застосування необхідно до

початку терапії досліджувати ступінь експресії антигенів на відповідних клітинах- мішенях (наприклад, CD20 або CD52 при використанні відповідно мабтери і кемпуса). У динаміці лікування, використовуючи метод проточний цитофлюориметрії, можна, можливо проводити моніторинг залишковою популяції пухлинних клітин. Підрахунок гемопоетичних стовбурових клітин на підставі ідентифікації антигену CD34 широко використовується в клінічній гематології, так як вони забезпечують поступове відновлення кісткового мозку після інтенсивною хіміотерапії.

Широке використання проточний цитофлюориметрії в онкогематології привело до якісно новою діагностики лейкозів і лімфом, а також до розробці нових підходів в оцінці ефективності лікування і моніторингу мінімальної залишковою хвороби, визначальною подальшу тактику ведення хворих.

Цитогенетичні та молекулярні дослідження, діагностичне значення

Матеріалом для дослідження зазвичай служать метафазні або прометафазні клітини, накопичені *in vitro*. Цитогенетики, вивчаючи каріотиби цих клітин, прагнуть визначити зв'язок їх змін з фенотиповими проявами захворювання та встановити внесок перебудов хромосом в обґрунтування діагнозу захворювання і прогнозу його течії. Стандартне цитогенетичне дослідження диференціально забарвлених метафазних хромосом має ряд об'єктивних обмежень: неоднорідність клітинної популяції в відношенні мітотичної активності, індексу спіралізації та поганого розходження хромосом; недоступність для аналізу клітин, що знаходяться в інтерфазі. У процесі попереднього культивування можливий вибіркового вихід у мітоз клітинних клонів, мають селективні переваги зростання, що також спотворює одержувані результати. Крім того, репрезентативність класичною цитогенетики через трудомісткості її методів невисока: зазвичай досліджують не більше 15-20 метафазних платівок. Цитогенетики дедалі ширше використовують молекулярні методи каріотипування, до яким відносять:

- гібридизація *in situ* з використанням специфічних проб до

центромірів;

- метод флуоресцентною гібридизації *in situ* (FISH) з допомогою специфічних ДНК-зондів;

- метод м'якою гіпотонічної обробки, залишаючою збереженими клітинну мембрану та цитоплазму клітини та фіксація кислотою або формальдегідом перед імунохімією (MAC-морфологія, антитіла, хромосоми);

- метод багатобарвного спектрального каріотипування (SKY).

Метод MAC може бути комбінований з гібридизацією *in situ* (MACISH), і тоді інтерфазні клітини стають легко оброблюваними матеріалом, особливо при захворюваннях, де отримати метафазні платівки важко. FISH-метод дозволяє відносно швидко досліджувати сотні інтерфазних ядер або метафазних платівок низького морфологічної якості виявлення перебудов того чи іншого гена. З допомогою SKY-методу проводять аналіз всього хромосомного набору в одному експерименті.

У гематології застосування методу FISH особливо перспективне при лімфопроліферативних захворюваннях з низьким мітотичним індексом або при Ph-негативних варіантах хронічного мієлолейкозу, коли цей метод стає єдиною можливістю виявлення химерного гена *bcr/abl*, а також при диференціальній діагностиці з іншими мієлопроліферативними захворюваннями або оцінки ефективності терапії. Детальна цитогенетична характеристика прогнозування перебігу захворювання часто неможлива через складність і множинність хромосомних перебудов. Тоді корисно використовувати багатобарвне спектральне каріотипування (SKY) із ДНК-зондами на весь хромосомний набір клітин.

За допомогою ДНК-зондів та гібридизації *in situ* не тільки визначають хромосомні перебудови, а й проводять генне картування. Отримали поширення пренатальна діагностика та моніторинг вагітності. У справжнє час цитогенетичну «прописку» на хромосомах людини отримали близько 1500 клінічних станів, серед яких схильність до захворюванням, хвороби з конституційними хромосомними перебудовами (ідентифікованими або

передбачуваними), злаякісні новоутворення (солідні пухлини та гемобластози), захворювання, асоційовані з мутаціями мітохондріальної ДНК. Немає сумніву в тому, що хромосомні аберації маркують аномалії статевого дозрівання і деякі успадковані патологічні стани. Зроблено спроби створення реєстра генних компонентів і полігенної специфіки таких захворювань, як діабет і психози.

Накопичено велику інформацію про значну кількість хромосомних порушень, специфічних для ряду гемобластоз. Виявлено клоновий характер змін каріотипу гемопоетичних клітин, що лежить в основі розвитку лейкозів та лімфатичних пухлин. Цитогенетичний аналіз у гематології став грати важливу роль в діагностики, прогнозуванні течії захворювань і оцінки ефективності застосовуваної терапії. Зміни хромосом при захворюваннях системи крові складні і торкаються як кількісного складу наборів – чисельних аберацій, так та структуру окремих хромосом – структурні аберації. При типових для гострих та хронічних гемобластозів хромосомних абераціях зміна локалізації або пошкодження структури генів може наводити до порушення їхньої експресії або до структурно-функціональних змін кодованих ними білків. Очевидно, ці зміни грають інтегральну роль в патогенез, а можливо і в прогресії лейкозу.

При хронічному мієлолейкози, хронічному лімфолейкози, хронічному мієломоноцитарному лейкози, В-лімфосаркомі хромосомні аберації типу $t(9;22)$, $t(5;12)$, $t(14;19)$, $t(14;18)$ призводять до перебудов *bcr*, *abl*, *tel* або *bcl* генів, химерні білкові продукти яких, змінюючи характер клітинної проліферації (при цьому, не будучи трансформуючим сигналом), роблять клітини безсмертними.

При гострих лейкозах ушкодження хромосом з локалізацією 11q23 (гострі лімфоїдні і мієлоїдні лейкози), 15q22 і 17q12 (гострий промієлоцитарний лейкоз і рідше - бластний криз хронічного мієлолейкозу), а також 21q22 (гострий мієлобластний лейкоз, бластний криз ХМЛ), як правило, видозмінюють генетичні фактори транскрипції (*MILL*, *PML*, *RARA*,

AML) і тим самим порушують клітинну та тканинну диференціювання, створюючи базу для злякисної трансформації клітин.

Крім перерахованих хромосомних аберацій при лейкозах часто реєструють мутації генів. Так, мутації сімейства протоонкогенів *RAS* бувають в 4% випадків ХМЛ на стадії розгорнутих проявів захворювання, і в 26% ГМЛ (частіше при гострому мієломобластній лейкозі), поєднуючись з більшою тривалістю життя хворих. Приблизно у 20% хворих гострими нелімфоцитарними лейкозами відмічені мутації протоонкогенів *FMS* (локалізовані на хромосомі 5q33) і підвищення тирозинкіназний активності. При ХМЛ часті мутації протоонкогену *TP53* (хромосома 17p13), тобто. втрата алеля гена *p53* , як правило, поєднуються з бластною трансформацією хронічної стадії лейкозу.

Реактивні зміни крові

Реактивні зміни включають зміни кількості клітин в крові, незвичайну морфологію клітин, а також зміни в кровотворних органах. У більшості випадків мається на увазі збільшення змісту клітин в крові (лейкоцитоз, еритроцитоз, тромбоцитоз), зміни крові непостійні, зі зникненням причини показники крові нормалізуються, ні ознак пригнічення нормального кровотворення.

Лейкоцитоз. Лейкоцитоз – збільшення кількості лейкоцитів $9 \times 10^9 / \text{л}$ крові. Збільшення загальної кількості лейкоцитів рідко характеризується пропорційною зміною клітин різних видів, тому застосовують конкретні терміни: нейтрофілоз, лімфоцитоз, моноцитоз, еозинофілія, базофілія. Щоб правильно верифікувати наявну патологію, потрібно аналізувати абсолютні показники змісту тих або інших клітин.

Фізіологічний лейкоцитоз (перерозподільчий) пов'язаний з прийомом їжі, лікарських препаратів, фізичними та емоційними навантаженнями, впливами холоду, тепла, наркозу. Він характеризується переходом лейкоцитів з пристінкового пула в циркулюючий. Цьому сприяють такі фактори як підвищений тиск крові в капілярах, порушення кровотоку в

дрібних судинах різних органів, підйом рівня адреналіну і кортизолу. Перерозподільчий лейкоцитоз буває, як правило, незначним та короткочасним.

Реактивний лейкоцитоз – результат посилення лейкопоезу у відповідь викид прозапальних факторів: цитокінів, токсинів, продуктів активації комплементу. Він спостерігається при інфекції, запалення, великих ушкодженнях тканин, пухлинах, інтоксикаціях, гострих анеміях.

Лейкопенія. Лейкопенія - зменшення кількості лейкоцитів в крові менше $4,5 \times 10^9$ /л. Виникає зазвичай як слідство нейтропенії, абсолютне зміст нейтрофілів в крові складає менше $2,0 \times 10^9$ /л. Падіння абсолютної кількості нейтрофілів нижче $0,5 \times 10^9$ /л позначають як агранулоцитоз. Лейкопенія - показник пригнічення кістковомозкового кровотворення, тяжкості патологічного процесу і низькою реактивності організму. Нейтропенія при зниженому змісті лейкоцитів, паличкоядерному зрушенні, токсигенної зернистості нейтрофілів свідчить про різким виснаження кістковомозкового гранулоцитарного резерву і є вкрай несприятливим прогностичним ознакою, так як завжди пов'язана із підвищеним ризиком розвитку інфекції. Різні вірусні інфекції можуть супроводжуватися розвитком лейкопенії з нейтропенією. Іноді лейкопенія спостерігається при інфекційному мононуклеоз. Лейкопенія з нейтропенією без зсуву лейкоцитарний формули вліво можлива при хронічних захворюваннях шлунково- кишкового тракту (холецистит, холангіт, гастрит, виразкова хвороба), важких атипичних формах гнійно-септичних і запальних процесів (Хронічний сепсис).

Нейтрофільоз та нейтропенія. *Нейтрофільоз* – збільшення кількості нейтрофілів в крові більше 6×10^9 /л, що обумовлює фізіологічний лейкоцитоз і більшу частину випадків реактивного лейкоцитозу. Ступінь виразності нейтрофілів лейкоцитоз залежить від об'єму кістковомозкового і судинного резервів, активності кістковомозковий продукції клітин, інтенсивності споживання гранулоцитів в тканинах, вірулентності мікроорганізмів,

характеру патологічного процесу, стану захисних систем організму. Час розвитку нейтрофілозу може обчислюватися хвилинами (демаргінація), годинником (викид нейтрофілів з кісткового мозку) і цілодобово (підвищення продукції клітин в кістковому мозку).

Справжнє збільшення числа циркулюючих нейтрофілів спостерігається в том випадку, якщо підвищена продукція і вихід в циркуляцію нейтрофілів стимулюється на рівні кісткового мозку. При тривалому впливі факторів, що індукують нейтрофілоз, відбувається виснаження кістковомозкового гранулоцитарного резерву і в кров виходять молоді клітини нейтрофілів ряду: паличкоядерні, метамієлоцити, мієлоцити і промієлоцити - *зрушення лейкоцитарний формули ліворуч*. Диференційна діагностика між реактивним лейкоцитозом і хронічним мієлолейкозом (ХМЛ) зазвичай нескладна, так як в першому разі є яскрава клінічна картина, а при одужанні картина крові нормалізується. У клінічно невиразних випадках досліджують активність лужний фосфатази нейтрофілів крові (висока при реактивних станах та низька при ХМЛ). Змін кількісного складу нейтрофілів може супроводжувати та їх морфологічні аномалії: токсична зернистість, вакуолізація цитоплазми, пікноз і лізис ядер. табл. 11

Таблиця 11

Клініко-діагностичне значення нейтрофілозу

Вид лейкоцитозу	Патогенетичні механізми	Клінічні форми
Реактивний (перерозподільний)	Перерозподіл пристінного та циркулюючого пулів, мобілізація кістковомозкового пула нейтрофілів Гіпоксія	Фізичне навантаження, фізіотерапевтичні процедури, біль, стрес, післяопераційні стани, прийом глюкокортикоїдів Гострі і хронічні анемії (постгеморагічна, гемолітична, аутоімуна)

Стимуляція лейкопоеза	Інфекційні агенти,токсини Запалення і некроз тканин (Фактори запалення та тканинного розпаду) Ендогенні інтоксикації	Абсцес, ангіна, скарлатина, отит, пневмонія, апендицит, пієлонефрит, менінгіт, сепсис, перитоніт Емпієм плеври, інфаркт органів, атака ревматизму, великі опіки татравми, злаякісні новоутворення Ацидоз, еклампсія, уремія, подагра
Пухлинний	Лейкозна проліферація клітин	Лейкози

Нейтропенія при зниженні продукції нейтрофілів у кістковому мозку виникає при апластичних станах, для яких провідними в Патогенез є ураження стовбурових клітин, підвищення супресорної активності Т-лімфоцитів в відношенні гемопоеза і підвищена здатність клітин до апоптозу. Характерними змінами в лейкоцитарною формулою при апластичних станах є абсолютна нейтропенія і відносний лімфоцитоз.

Зниження продукції нейтрофілів може бути обумовлено зменшенням гранулоцитопоезу через витіснення гемопоетичних клітин пухлинними клітинами при гострій лейкозі, фіброзній тканиною при мієлофіброзе або метастазування злаякісних новоутворень в кістковий мозок. Клінічно нейтропенія поєднується з різкою стомлюваністю, гіпотонічними станами, порушеннями сну, голодуванням, аліментарною дистрофією. У основі ряду нейтропеній може лежати посилена внутрішньокістномозкова деструкція нейтрофілів – неефективний гранулоцитопоез. Класичним прикладом його є нейтропенія при U_{12} -фолієводефіцитної анемії, мієлодиспластичний синдром.

Однією з причин розвитку нейтропенії і агранулоцитоз є реакція на Вступ лікарських препаратів. Пеніциліни, сульфаніламід, цефалоспорини і інші препарати можуть надавати пряме токсична дія на процеси проліферації гранулоцитів в кістковому мозку або індукувати продукцію аутоімунних антитіл проти клітин-попередників нейтрофілів. Лейкопенія з нейтропенією і наявністю антинейтрофільних цитоплазматичних антитіл частозустрічається при гранулематоз Вегенера, виразковому коліті. Прискорене руйнування нейтрофілів відбувається при спленомегалії. Лейкопенія з нейтропенією

супроводжує ревматоїдний артрит, системну червону вовчак.

Нейтропенія може з'являтися внаслідок генералізації інфекції, наприклад, при міліарному туберкульоз. Кількісні зміни лейкоцитів можуть супроводжуватися морфологічними аномаліями нейтрофілів в вигляді асинхронності дозрівання ядра і цитоплазми, порушення гранулогенезу, дефіциту ферментативної активності та зниження функціональної спроможності нейтрофілів. Причини та механізми розвитку нейтропеній представлені в табл. 12.

Еозинофілія та еозинопенія. *Еозинофілія* – збільшення кількості еозинофілів у крові більше $0,4 \times 10^9$ /л – характерна ознака алергізації організму (бронхіальна астма, атопічні екземи, сінна лихоманка, харчова алергія). Стійка значна еозинофілія може бути викликана глистими і паразитарними інвазіями, пухлинами, колагенозами, імунодефіцитами (Гіпер-IgE-синдром). Еозинофілія спостерігається при запальних захворюваннях, аутоімунних процесах, хронічних інфекціях (туберкульоз), шкірних захворюваннях (екзема, псоріаз, пухирчатка, герпес, мікози), при яких приєднується алергічний компонент (Табл. 13).

Таблиця 12

Клініко-діагностичне значення нейтропенії

Лейкопенії	Патогенетичні механізми	Захворювання і стану
Функціональні	Пригнічуючий вплив бактеріальних токсинів на нейтропоез, результат активації макрофагів при вірусних і рикетсіозних інфекціях Ареактивний стан Перерозподіл нейтрофілів в органах Підвищена руйнація нейтрофілів імунного генезу: гетероімунні (гаптенів) Аутоімунні	Підгострий септичний міокардит, хронічний сепсис, міліарний туберкульоз, тяжкий перебіг інфекційних захворювань, ГРВІ, грип, вірусний гепатит Гіпотонічний стан, голодування, тривалий недосипання стрес, аліментарна дистрофія Анафілактичний шок, синдром Фелті Гіперчутливість до лікарських препаратів Системна червона вовчак, ревматоїдний артрит, лімфопроліферативні захворювання

Органічні	Недостатність кістковомозкового кровотворення Недостатність нейтропоезу при лейкозах Дефіцит вітаміну В ₁₂ і фолієвої кислоти Спадкові форми Екзогенні фактори: цитостатики, іонізуюча радіація, хімічні агенти	Апластична анемія Гострі лейкози і хронічні лімфолейкози, МДС Мегалобластні анемії Спадкова доброякісна нейтропенія, циклічна нейтропенія, синдром Чедіака-Хігасі Променева хвороба, агранулоцитоз, гіпо- і апластичні стани
-----------	--	--

Таблиця 13

Клініко-дагностичне значення еозинофілії

Патогенетичні механізми	Захворювання
Інвазія паразитами	Аскаридоз, трихінельоз, токсокароз, ехінококоз, шистосоматоз, філяріатоз, стронгілоїдоз, опісторхоз, анкілостомідоз, лямбліоз
Пухлинна проліферація (підвищена продукція ІЛ-5)	Гіперезинофільний синдром, лімфогранулематоз, гострі та хронічні лейкози, лімфоми, злоякісні новоутворення інших локалізацій, що супроводжуються метастазами або некрозом
Сенсибілізація організму	Лікарська алергія, бронхіальна астма, алергічні дерматити, риніт, інфекційний еозинофіліоз.
Патологія сполучною тканини	Вузликовий періартеріїт, ревматоїдний артрит, системна склеродермія, еозинофільний фасціїт
Інфекції	Туберкульоз, хламідійна пневмонія
Інтерстиціальні та інші захворювання легень	Саркоїдоз, гістіоцитоз з клітин Лангерганса, еозинофільний плеврит, хронічна еозинофільна пневмонія

Еозинопенія - зменшення кількості еозинофілів в крові менше 0,2 x 10⁹/л. Еозинопенія зустрічається на першому етапі запального процесу, при тяжких гнійних інфекціях, шоці, стресі, еклампсії, пологах, інтоксикаціях хімічними з'єднаннями, важкими металами, в післяопераційному періоді.

Оцінка динаміки зміни кількості еозинофілів в течія запального процесу має прогностичне значення. Еозинопенія відповідає початку запалення, відновлення кількості еозинофілів або еозинофілія - початку одужання. Однак ряд інфекційних і інших захворювань з високим рівнем IgE характеризуються еозинофілією після закінчення запального процесу, що вказує на незакінченість імунної реакції з її алергічним компонентом. У те ж час зниження кількості еозинофілів в активній фазі захворювання часто свідчить про тяжкість процесу та є несприятливою ознакою. У цілому зміна кількості еозинофілів в периферичній крові є результатом дисбалансу процесів продукції клітин в кістковому мозку, їх міграції і розпаду в тканинах.

Базофілія. Базофілія – збільшення кількості базофілів у крові більше ніж $0,2 \times 10^9/\text{л}$. Базофіли і огрядні клітини беруть участь в клітинних запальних реакціях сповільненого типу в шкірі і інших тканинах, викликаючи гіперемію, формування ексудату, підвищену проникність капілярів. Ці клітини є основним джерелом медіаторів, запускаючих анафілактичну реакцію гіперчутливості негайного типу. Дегрануляція базофілів і виділення ними в кров біологічно активних речовин, в том числі фактор А хемотаксису еозинофілів, супроводжується підвищенням еозинофілів, яке зустрічається скрізь, де є збільшення числа опасистих клітин або підвищення їх активності. Збільшення змісту базофілів може відбуватися в секретах дихальних шляхів при алергії, в нирках при хронічному інтерстиціальному нефриті та відторгненні трансплантату, при контактному дерматиті, хронічному виразковому коліті. Базофілія може спостерігатися при алергічних захворюваннях, в ранній фазі ревматизм, при хронічному мієлоїдному лейкозі, мієлофіброзе, еритремія.

Моноцитоз та моноцитопенія. *Моноцитоз* – збільшення кількості моноцитів в крові більше $0,8 \times 10^9/\text{л}$. Реактивний моноцитоз може розвиватися при станах, що характеризуються персистенцією антигену організмі (Табл. 14.): при хронічних тривалих інфекції, аутоімунних

захворюваннях, реактивних гістіоцитоз, пухлини. Диференціальну діагностику проводять із гострими лейкозами, що мають характерні зміни в кістковому мозку, та хронічними моноцитарними та мієломоноцитарними лейкозами.

Моноцитопенія – зменшення кількості моноцитів у крові менше ніж $0,09 \times 10^9$ /л. Моноцитопенія зустрічається при гіпоплазії кровотворення.

Таблиця 14

Клініко-діагностичне значення моноцитоз

Патогенез	Захворювання
Реактивний моноцитоз (посилення проліферації в кістковому мозку клітинних елементів моноцитопоезу)	Інфекції (підгострий септичний ендокардит, вірусні, грибкові, рикетсіозні, протозойні інфекції), період реконвалесценції після гострих інфекцій Хронічні інфекції, що супроводжуються утворенням гранульом (туберкульоз, сифіліс, бруцельоз, саркоїдоз) Хронічні захворювання кишечника (виразковий коліт) Системний червоний вовчак, ревматоїдний артрит, вузликовий періартеріт
Пухлинний моноцитоз	Гострі та хронічні моноцитарний і мієломоноцитарний лейкози

Лімфоцитоз і лімфоцитопенія. *Лімфоцитоз* - збільшення кількості лімфоцитів в крові більше 4×10^9 / л). Основними причинами реактивного лімфоцитозу є вірусні інфекції, хронічні бактеріальні інфекції, токсоплазмоз. При інфекціях більшість лімфоцитів представлено широкоцитоплазмовими клітинами, що зустрічаються імунобласти, лімфоцити з базофільною цитоплазмою (активовані лімфоцити), Плазмоцити. Відносний лімфоцитоз з нейтропенією характерний для кору, при цьому може зберігатися нормальна кількість лейкоцитів. Захворювання сполучної тканини (ревматизм, ревматоїдний) артрит, системний червоний вовчак, склеродермія та ін.) супроводжуються лімфоцитозом, серед лімфоцитів зустрічаються широкоцитоплазмові і плазматизовані клітини, збільшено кількість

плазмоцитів. Характерна клінічна картина та дитячий вік пацієнтів виключають хронічний лімфолейкоз. У неясних випадках імунофенотипування виявляє поліклональний характер лімфоцитозу при реактивних станах і моноклональний - при ХЛЛ (CD19+CD20+CD23+CD5+) або лейкомізації лімфом.

Інфекційний мононуклеоз - гостре вірусне захворювання з вираженою бласттрансформацією лімфоцитів, появою цих клітин у крові, реактивним лімфаденітом. Інфекційний мононуклеоз викликається вірусом Епштейна-Барр. Це В-лімфотропний вірус інфікує В-лімфоцити через поверхневі антигени CD21, викликаючи їх проліферацію, довічно персистує в В-лімфоцитах, обумовлена розвиток міцного нестерильного імунітету. До 25 рокам 85% людей інфіковані вірусом. При захворюванні відбувається проліферація реактивних Т-лімфоцитів, а також уражених і реактивних В-лімфоцитів у лімфатичній тканині, що призводить до виходу активованих клітин в кров. Відсоток атипових мононуклеарів може варіювати і досягати 60-80% у розпал захворювання з поступовим зниженням у міру одужання. Для інфекційного мононуклеозу в період реконвалесценції характерні еозинофілія та моноцитоз, збільшення ШОЕ. Захворювання триває 3-4 тижні з тривалим астеничним синдромом після одужання. Атипові мононуклеари (реактивні чи активовані лімфоцити) - це бласттрансформовані лімфоцити, в більшості своєму - реактивні Т-лімфоцити, що забезпечують протівірусну захист, а також проліферуючі В-лімфоцити. Їм притаманні виражені анізоцитоз і поліморфізм - різне ядерно-цитоплазматичне співвідношення; різноманітна форма ядра, часто моноцитотідна; згладжене, гомогенне будова хроматину; різна за об'ємом та забарвленням цитоплазма, зазвичай з вираженою крайовою базофілією.

Атипові мононуклеари характерні не тільки для інфекційного мононуклеозу, кількість їх зростає за будь-яких вірусних інфекцій. У всіх випадках інфекційного мононуклеозу рекомендовано обов'язкове обстеження на ВІЛ-інфекцію, оскільки при ВІЛ-інфекції нерідкі випадки

мононуклеозоподібного синдрому: збільшення лімфатичних вузлів і кількості мононуклеарів в крові.

Лімфоцитопенія – зниження лімфоцитів в крові нижче $1,0 \times 10^9$ /л, Причиною лімфоцитопенії можуть бути гострі інфекційні хвороби (ВІЛ, туберкульоз, гнійні та септичні захворювання), імунодефіцитна спадкова патологія (хвороба Віскотта-Олдріча, комбінований імунодефіцит), апластична анемія, виникає під впливом іонізуючого впливу або хімічних агентів. Зменшення лімфоцитів в крові спостерігається при станах організму, в яких збільшується концентрація глюкокортикостероїдів (тривала гормонотерапія, захворювання Іценко-Кушинга), при нирковій недостатності, спленомегалії, серйозною патології печінки. У дітей і підлітків лімфоцитопенії можлива в результаті алергізації організму і при спадковий імунодефіцит.

Еритроцитоз. Еритроцитоз - збільшення кількості еритроцитів крові більше 6×10^{12} / л у чоловіків і більше 5×10^{12} /л у жінок. Еритроцитоз може бути реактивний (вторинний або симптоматичний) та пухлинний (первинний). Розрізняють абсолютні (первинні і вторинні або симптоматичні) еритроцитоз, викликані посиленням еритропоезу, і відносні еритроцитоз, що характеризуються зменшенням об'єму плазми. Реактивний еритроцитоз розвивається внаслідок гіперпродукції еритропоетину (ЕПО) у відповідь на тканинну гіпоксію, пухлини, полікістоз нирок, стеноз ниркової артерії, гідронефроз. Підвищення вироблення ЕПО є важливим критерієм диференціальної діагностики реактивного еритроцитоз від еритремія, при якій рівень ЕПО не збільшено, а посилений еритропоез – результат неконтрольованого пухлинного зростання. У користь еритремії свідчать спленомегалія, виявлення клональних генетичних аномалій, лейкоцитоз вище 12×10^9 /л при відсутності інфекцій, тромбоцитоз вище 400×10^9 /л.

Ретикулоцитоз (збільшення кількості ретикулоцитів у крові більше $80-90 \times 10^9$ /л або більше 1,2%) спостерігається при постгеморагічній анемії, гемолізі, терапії ЕПО, вітаміном В₁₂, фолієвий кислотою і інших станах. Для

проведення допінгового контролю у спортсменів пропонується використовувати показники гематокриту і ретикулоцитів. Підозрою на прийом РЕПО є ретикулоцитоз більше 2,4% і гематокрит більше 47%.

Еритроцитопенія. Еритроцитопенія - зменшення кількості еритроцитів в крові менше $4,0 \times 10^{12}$ /л. Еритроцитопенія може розвинути внаслідок різних причин: крововтрати, апластичні анемії, підвищений гемоліз еритроцитів; радіаційне опромінення; захворювання печінки, нирок; дефіциту гемопоетичних факторів (залізо, вітамін В12, фолієва кислота); інфекції, в зокрема, при туберкульоз. Еритроцитопенія часто супроводжується неефективним еритропоезом, котрий проявляється підвищеним змістом і дисплазією еритрокаріоцитів в кістковому мозку, накопиченням в них ШИК-позитивного матеріалу і гранул заліза, підвищеним апоптозом.

Ретикулоцитопенія має місце при апластичній анемії, парціальної червоноклітинною аплазії, метастази раку в кістковий мозок, лейкози, зниження рівня ЕПО, неефективному еритропоезі, мієлодиспластичному синдромі.

Тромбоцитоз. Тромбоцитоз – збільшення кількості тромбоцитів у крові більше 400×10^9 /л. Тромбоцитоз може бути первинним, в результаті пухлинний проліферації мегакаріоцитів при хронічних мієлопроліферативних захворюваннях (ХМПЗ) і вторинним реактивним (Табл. 15). Реактивний тромбоцитоз можливий при злоякісних новоутвореннях, запальних захворюваннях, після кровотеч, гемолітичних кризів, оперативних втручань і спленектомії. Про первинному тромбоцитоз внаслідок при гострій і хронічному мегакаріоцитарних лейкозах збільшення числа тромбоцитів може бути до кількох мільйонів (Гіпертромбоцитоз). Велика маса клітин наводить до мікроциркуляторним порушенням в результаті згортання крові з наступним розвитком геморагічного синдрому.

Тромбоцитопенія. Тромбоцитопенія - зменшення кількості тромбоцитів в крові нижче 150×10^9 /л). Тромбоцитопенії є результатом недостатнього утворення, підвищеного руйнування або споживання тромбоцитів (Табл. 16).

Розрізняють спадкові та набуті тромбоцитопенії.

Таблиця 15

Тромбоцитози

Тромбоцитоз	Захворювання та синдроми
Реактивний	Спленектомія, гостра крововтрата і гострий гемоліз, після операції, злоякісні новоутворення, туберкульоз, виразковий коліт.
Пухлинний	Мієлопроліферативні захворювання (хронічний мієлолейкоз, мієлофіброз, еритремія, мегакаріоцитарний лейкоз, ідіопатична геморагічна тромбоцитемія)

Таблиця 16

Клініко-діагностичне значення тромбоцитопенії

Патогенетичні механізми	Клінічні ситуації і патологічні стану
Недостатнє утворення тромбоцитів	Гіпо- та апластичні стани, лейкози, метастази раку в кістковий мозок, іонізуюче опромінення, хіміотерапія, дефіцит вітаміну В ₁₂ або фолієвої кислоти.
Підвищене споживання тромбоцитів	Крововтрата, ДВЗ, гігантська гемангіома, тромбоз, геморагічна тромбоцитопенія
Підвищена деструкція тромбоцитів	Авто- і імунні гемолітичні анемії, ізоімунні, гетероімунні (гаптенів), лікарські, вірусні, системний червоний вовчак, лімфопроліферативні захворювання.
Механічні ушкодження тромбоцитів	Протезування клапанів серця, екстракорпоральний кровообіг
Екзогенна інтоксикація	Хімічні речовини, лікарські препарати, алкоголь, сепсис
Ендогенна інтоксикація	Уремія, важкі захворювання печінки
Підвищена секвестрація в селезінці (гіперспленізм)	Спленомегалія при цирозі печінки, синдромі портальної гіпертензії, гістіоцитоз, хворобах накопичення, синдромі Фелті, мієлопроліферативних захворюваннях, таласемії.

Набуті тромбоцитопенії можуть спостерігатися при гіперспленізм, інфекційних захворюваннях, хронічної інтоксикації будь-якого генезу, гіпер- і метастатичних поразки кісткового мозку, променевої і цитостатичної терапії і супроводжуються геморагічний синдромом. Серед придбаних тромбоцитопеній найбільш частозустрічаються імунні та аутоімунні.

Імунні тромбоцитопенії – це група захворювань, за яких зниження в крові числа тромбоцитів обумовлено продукцією антитромбоцитарних ауто- або алоантитіл і прискореним руйнуванням сенсibiliзованих тромбоцитів в ретикулоендотеліальній системі.

Ідіопатичні тромбоцитопенії – етіологічний фактор залишається невідомим. Характерно збільшення кількості мегакаріоцитів, нормальна швидкість продукції тромбоцитів і різко укороченатривалість їх життя. Зміна морфології тромбоцитів і показників гемостазу при тромбоцитопеніях незалежно від генезу, досить однотипні. Відзначається анізоцитоз тромбоцитів, атипові і гігантські форми, невелика азурофільна зернистість або повне відсутність грануломіра, базофілія цитоплазми, так звані блакитні платівки.

ЗАХВОРЮВАННЯ СИСТЕМИ КРОВОТВОРЕННЯ

Анемії, класифікації анемій

Анемія - стан, що характеризується зниженням концентрації гемоглобіну і, в більшості випадків, кількості еритроцитів і гематокриту в одиниці об'єму крові.

Критеріями для діагностики анемії вважаються:

- у чоловіків кількість еритроцитів < 4,0 млн/мкл, Hb < 130 г/л, Ht < 39%;
- у жінок число еритроцитів < 3,8 млн/мкл, Hb < 120 г/л, Ht < 36%;
- у вагітних Hb < 110 г/л, Ht < 33%.

Анемія може бути *відносна*, спричинена збільшенням об'єму плазми (гемодилуція, гіперволемія), і *абсолютна* - обумовлена зміною кількості

циркулюючих еритроцитів. Відносна анемія спостерігається при вагітності, серцевий недостатності, трансфузії кровозамінників, гострої крововтрати. Анемії різноманітні по генезу і часто мають змішаний патогенез. У більшості випадків анемія – не самостійна нозологічна форма, а прояв основного захворювання. Велика різноманітність факторів, що лежать в основі розвитку анемій, ускладнює їхню диференціальну діагностику. На першому етапі діагностичного пошуку основною метою є визначення основного механізму, що зумовлює зниження еритроцитів і гемоглобіну. На наступному етапі діагностика спрямована на виявлення причини анемії. Ці етапи діагностики анемій базуються на даних лабораторного дослідження та залежать багато в чому як від рівня та якості проведених досліджень, і від правильної інтерпретації отриманих результатів. Існує кілька класифікацій анемій, заснованих на етіологічних, патогенетичних, гематологічних ознаки. Для практичних цілей найбільш зручною є класифікація анемій, побудована по патогенетичному принципом.

Патогенетична класифікація анемій:

I. Анемії внаслідок крововтрати:

- Гостра постгеморагічна анемія;
- Хронічна постгеморагічна анемія.

II. Анемії, обумовлені недостатністю еритропоезу:

• Гіпохромні анемії:

- Залізодефіцитна анемія;
- Анемії, пов'язані з порушенням синтезу порфіринів.

• Нормохромні анемії:

- Анемії хронічних захворювань;
- Анемія при хронічній нирковий недостатності;
- Апластичні анемії;
- Анемії при пухлинних і метастатичних поразки кісткового мозку.

• Мегалобластні анемії:

- Анемії, обумовлені дефіцитом вітаміну В₁₂;
- Фолієводефіцитні анемії.

III. Анемії внаслідок посиленого руйнування еритроцитів (гемолітичні анемії):

- Анемії, обумовлені позаеритроцитарними факторами:

- **Імунні гемолітичні анемії:**

- Ізоімунні гемолітичні анемії;
- Аутоімунні гемолітичні анемії.

- **Гемолітичні анемії, обумовлені механічним ушкодженням**

еритроцитів:

- Анемії, обумовлені еритроцитарними факторами:

- **Гемолітичні анемії, пов'язані з порушенням структури мембрани еритроцитів (еритроцитопатії-спадкові та набуті):**

- Мікросфероцитарна гемолітична анемія;
- Овалоцитарна гемолітична анемія;
- Стоматоцитарна гемолітична анемія;
- Гемолітичні анемії, зумовлені порушенням структури ліпідів мембрани еритроцитів (акантоцитоз).

- Гемолітичні анемії, обумовлені дефіцитом ферментів еритроцитів (еритроцитарні ензімопатії):

- Гемолітичні анемії, пов'язані з порушенням синтезу глобіну (гемоглобінопатії);

- Таласемії;

- Гемолітичні анемії, зумовлені носієм аномальних гемоглобін - (HbS, HbC, HbD, HbE та ін.);

- Гемолітичні анемії, зумовлені носієм аномальних нестабільних гемоглобінів.

- Гемолітична анемія, обумовлена соматичної мутацією клітин-попередників мієлопоезу.

- Пароксизмальна нічна гемоглобінурія.

Висока точність і відтворюваність результатів, можливість підрахунку великого кількості клітин і розрахункових параметрів на гематологічних аналізаторів, що дозволили використовувати диференційно-діагностичний алгоритм поділу анемії на підставі еритроцитарних індексів.

Постгеморагічна анемія. Гостра постгеморагічна анемія. Провідні симптоми великої кровотечі – гострий дефіцит об'єму циркулюючої крові (ОЦК). У відповідь розвиток дефіциту ОЦК включаються адаптаційні механізми, спрямовані на його компенсацію.

Рефлекторна фаза супроводжується спазмом периферичних судин, котрий призводить до зменшення об'єму судинного русла. Відбувається перерозподіл крові по органам і системам - здійснюється централізація кровообігу, що сприяє компенсації дефіциту ОЦК. Завдяки виключенню периферичних судин із кровообігу зберігається кровотік у життєво важливих органах - головний та спинний мозок, міокард, надниркові залози.

Зменшення загального об'єму судинного русла призводить до того, що, попри на абсолютне зменшення кількості еритроцитарної маси, показники гемоглобіну і еритроцитів в одиниці об'єму крові наближаються до вихідних цифр і не відображають ступінь анемізації, не змінюється величина гематокриту, в то час як ОЦК різко знижений. Безпосередньо після крововтрати має місце прихована анемія. У період кровотечі в зв'язку з великим споживанням тромбоцитів, які мобілізуються для його зупинки, можливо зниження їх змісту.

Фаза компенсації (гідремічна) розвивається через 2-3 год після крововтрати, характеризується мобілізацією міжтканинної рідини і надходженням її в кров'яне русло. Постгеморагічний період супроводжується виходом еритроцитів з депо і збільшенням ОЦК з подальшим зниженням в'язкості крові та поліпшенням її реології. Тим самим створюються умови для відновлення центральної і периферичної гемодинаміки та мікроциркуляції.

Фаза гемодилуції в залежності від величини і тривалості крововтрати

може тривати від кількох годин до кількох днів. Вона характеризується збільшенням проникності стінок судин, що наводить до надходження в кров'яне русло тканинної рідини. Приплив тканинної рідини відновлює ОЦК, знімає спазм периферичних судин і сприяє одночасному, рівномірному зниженню кількості гемоглобіну та еритроцитів в одиниці об'єму крові.

Розвивається через 1-2 дня після крововтрати анемія носить нормохромний нормоцитарний характер. Насичення еритроцитів гемоглобіном та його концентрація в одному еритроциті залежать від наявності запасів заліза в організм. Найбільші зміни гематологічних показників периферичної крові спостерігаються зазвичай через 4-5 днів після крововтрати. Ці зміни обумовлені активною проліферацією кісткомозкових елементів. Через 3-5 днів після кровотечі розвивається ретикулоцитоз з різким збільшенням фракції незрілих ретикулоцитів (IRF), що на тлі активного еритропоезу відображає регенераторну здатність кісткового мозку, що стає максимальною до 7-10 дня. Розмір еритроцитів після кровотечі дещо зростає (макроцитоз). Поява поліхроматофільних макроцитів призводить до збільшення MCV, і анемія може стати *макроцитарної нормохромний*. Можуть з'явитися еритробласти. Після зупинки кровотечі нормалізація кількості ретикулоцитів спостерігається через 2-3 тижні. Якщо кількість ретикулоцитів до початку другого тижня не знижується, це може свідчити про триває кровотечі.

Хронічна постгеморагічна анемія формується як гіпохромна нормоцитарна анемія при тривалій помірній крововтраті, наприклад, при хронічних шлунково-кишкових кровотечах або при гінекологічних та урологічних захворюваннях.

Гіпохромні анемії. Залізодефіцитна анемія (ЖДА). Поширеність залізодефіцитних станів у жінок дітородного віку і дітей в деяких регіонах Росії досягає 30-60%. Хронічна крововтрата є найбільш частою причиною розвитку ЖДА. У 500 мл крові міститься 250 мг заліза (1 мл-0,5 мг), тому при триває кровотечі, відбувається значна втрата заліза, попри на збільшення

всмоктування його в кишечнику. При щоденній втрати 6-12 мл крові розвивається негативний баланс заліза. Найбільш частими джерелами крововтрат є шлунково-кишковий тракт і сечостатеві органи (міома матки, ендометріоз, функціональні менорагії). Виділяють латентний дефіцит заліза і власне залізодефіцитну анемію. У першу чергу знижується зміст депонованого заліза в органах та тканинах, потім транспортного заліза, кілька пізніше - заліза гемовмісних ферментів і потім заліза, необхідного для синтезу гемоглобіну.

Латентний (прихований) дефіцит заліза супроводжується сидеропенічний синдром, обумовлений тканинним дефіцитом заліза. Він включає сухість шкіри, зміни нігтів, збочення смаку та нюху, випадання волосся, карієс, м'язову слабкість, відставання у фізичному та психомоторному розвитку дітей. Лабораторні показники метаболізму заліза на цієї стадії характеризуються гіпоферитинемія, зниженням концентрації сироваткового заліза, збільшенням змісту трансферину і розчинних рецепторів для трансферину, а також загальної залізо зв'язувальної здібності (ОЖРС). Синтез гемоглобіну на цієї стадії не порушено та еритроцитарні показники (Hb, RBC, MCV, MCH, MCHC) зберігаються у межах норми. У разі незначного зниження MCV, MCH та підвищення RDW при нормальній концентрації гемоглобіну, можна припустити наявність латентного дефіциту заліза та дослідити вміст феритину у сироватці крові. При трансформації латентного дефіциту заліза в залізодефіцитну анемію підвищення RDW (показник анізоцитозу еритроцитів) може передувати змін інших еритроцитарних параметрів.

Залізодефіцитна анемія (ЖДА) проявляється гіпоксичним і сидеропенічний синдромами. Дефіцит заліза в організмі наводить до порушення функції імунокомпетентних клітин і до порушення клітинних механізмів імунорезистентності, що є причиною частих гострих респіраторних та вірусних захворювань, особливо у дітей. У залежності від стану еритропоетичної активності кісткового мозку розрізняють

регенераторну та гіпорегенераторну стадії ЖДА.

Регенераторна стадія (гіперпроліферативна) ЖДА характеризується нормальною клітинністю кісткового мозку, помірною гіперплазією клітин червоного ряду (кількість їх досягає 40-60% від спільного кількості мієлокаріоцитів), переважанням базофільних і поліхроматофільних еритробластів. Гіперплазія еритроїдного паростка обумовлена компенсаторним посиленням синтезу еритропоетину у відповідь на тканинну гіпоксію. При нестачі заліза клітини еритрону синтезують гемоглобін в меншій концентрації, що наводить до зменшення гемоглобінізації цитоплазми дозріваючих еритрокаріоцитів. Оскільки поділ клітин залежить від концентрації гемоглобіну, число мітозів во час їхнього дозрівання може бути підвищеним і це призводить до утворення не тільки гіпохромних, але і дрібних по розміром еритрокаріоцитів і, відповідно, ретикулоцитів і еритроцитів (Мікроцитів). За міри порушення процесів гемоглобіноутворення відбувається зниження MCV, MCH та MCHC. У таких хворих еритроцитарна гістограма має вигляд одиночного піка, значно зрушеного в ліву бік, RDW (показник анізоцитозу еритроцитів) в межах норми, або трохи збільшено.

Гіпорегенераторна стадія ЖДА характеризується виснаженням проліферативної активності кісткового мозку, зниженням кількості сидеробластів, підвищенням неефективного еритропоезу, що призводить до зниження кількості еритроцитів, появі популяції червоних клітин з збільшеним об'ємом. Еритроцитарна гістограма уплощується і значно розтягується вздовж осі X, вказуючи на наявність двох популяцій еритроцитів - мікро- і макроцитів. MCV може збільшуватися, так як є усередненим показником об'єму еритроцитів. Присутність мікро- та макроцитів призводить до підвищення RDW, що корелює з наявністю змішаного анізоцитозу в мазках периферичної крові. Може спостерігатися анізохромія еритроцитів, а також незначний пойкилоцитоз. Кількість ретикулоцитів знижено, що відображає зниження проліферативної активності еритроїдних клітин.

на тлі прийому препаратів заліза відзначається незначне підвищення кількості еритроцитів, збільшення концентрації гемоглобіну, MCH, MCHC, MCV. Показник анізоцитозу (RDW) значно підвищується, що свідчить про гетерогенність популяції еритроцитів. Еритроцитарна гістограма стає бімодальною, перший пік її характеризує популяцію з низьким об'ємом (мікроцити), другий - поява еритроцитів із нормальним об'ємом (нормоцити). Максимальний підйом ретикулоцитів доводиться на 16-18 день лікування.

ЖДА характеризується зниженням змісту заліза, феритину в сироватці крові, % насичення трансферину залізом, підвищенням концентрації розчинних рецепторів до трансферину (sTfR), ОЖРС, трансферину. Інформативним показником оцінки метаболізму заліза є коефіцієнт насичення трансферину залізом (НТЗ), Котрий розраховується по формулі:

$$\text{Насиченість трансферину залізом (\%)} = \frac{\text{залізо (мкг / дл)}}{\text{трансферин (мг / дл)} \times 1,41} \times 100$$

При ЖДА показник НТЗ знижується менше 15%. Концентрація феритину в сироватці крові відображає величину запасів заліза в організм. Зниження рівня феритину (менше 15 мкг/л) спостерігається як при латентному дефіциті заліза, і при ЖДА. Усі перелічені вище показники повинні використовуватися тільки в комплексі з гематологічними параметрами, т.к. їх зміни спостерігаються при різноманітних захворюваннях. Зміст феритину у сироватці крові не завжди відображає справжні запаси заліза в організмі і часто підвищується, незалежно від кількості депонованого заліза, при запалення, інфекції, онкологічних захворюваннях, захворюваннях печінки та інших станах. У цих випадках визначення високою концентрації sTfR дозволяє діагностувати ЖДА. Концентрація розчинних рецепторів до трансферину відображає потреби переважно еритроїдних клітин в залозі, тому в випадках підвищення еритропоетичної активності кісткового мозку та вираженого дефіциту заліза відзначається підвищення їх вміст у сироватці крові. Кількість sTfR залишається стабільною при запальних процесах і вагітності.

Анемії, пов'язані з порушенням синтезу порфіринів (Сидеробластні анемії). Розвиток анемії обумовлено недостатньою або аномальною утилізацією внутрішньоклітинного заліза при синтезі гемоглобіну, попри на нормальне або навіть підвищений зміст заліза в мітохондріях еритроїдних попередників. Лабораторні дослідження виявляють високу концентрацію заліза та феритину в сироватці крові та підвищене насичення трансферину залізом. У кістковому мозку відзначається гіперплазія еритроїдних клітин. Забарвлення на залізо виявляє патогномонічні зміни, обумовлені накопиченням неутілізованого заліза в мітохондріях еритрокаріоцитів - кільцеподібні сидеробласти. Спадкові та набуті анемії, пов'язані з порушенням синтезу порфіринів, характеризуються гіпохромією, високим змістом заліза сироватки і гемосидерозом органів.

Спадкові анемії цього типу зустрічаються порівняно рідко, переважно у чоловіків, оскільки спадкування зчеплене з X-хромосомою. Щодо частіше спостерігається форма хвороби, викликана дефектами синтезу δ -амінолевулінової кислоти. Порушення утворення протопорфірину зумовлює неможливість зв'язування заліза і внаслідок цього відбувається накопичення його в організм. Переважна надходження заліза в печінка наводить до розвитку цирозу, у підшлунковій залозі – до цукрового діабету, накопичення заліза в яєчках - до євнухоїдизму, в надниркових залоз - наднирникової недостатності. Зміст ретикулоцитів нормальне або кілька знижене. Еритроцити гіпохромні, відзначається анізоцитоз, пойкилоцитоз, окремі мішенеподібні еритроцити. Для цієї анемії характерні ознаки неефективного еритропоезу, Котрий визначається як анемія з відносною або абсолютною ретикулоцитопенією. Вміст заліза у сироватці значно підвищений (до 100 мкмоль/л), трансферин насичений залізом майже на 100%.

Набуті анемії обумовлені порушенням синтезу порфіринів, виникаючи частіше при отруєння свинцем або дефіцит вітаміну В₆. Свинець блокує активні центри двох ферментів, беруть участь в синтезі гема - синтетази δ -амінолевулінової кислоти і ферохелатази, знижує швидкість синтезу α -

ланцюги глобіну. Порушується включення заліза в молекулу протопорфірину, збільшується вміст заліза в сироватці і відкладення його в тканинах. У периферичній крові поступово знижується вміст гемоглобіну до 50-60 г/л, еритроцити з вираженою гіпохромією (низькі МСН, МСНС), виявляється анізо-пойкілоцитоз, утворюється базофільна пунктація еритроцитів. Зміст заліза в сироватці крові підвищується до 350–550 мкг/дл, насичення трансферину залізом досягає 100%. У сироватці крові відзначається висока концентрація феритину. Самим характерним біохімічним ознакою свинцевого отруєння є збільшення концентрації у сечід-амінолевулінової кислоти та копропорфірину, в еритроцитах підвищено зміст протопорфірину.

Нормохромні анемії. Анемія хронічних захворювань (АХЗ). Анемія часто супроводжує хронічні інфекційні, ревматичні захворювання та неінфекційні захворювання – кишечника, сполучної тканини, множинну мієлому та інші злоякісні новоутворення. АХЗ посідає за поширеністю друге місце після залізодефіцитної анемії. Анемія зазвичай носить нормохромний нормоцитарний характер, однак гіпохромія зустрічається також часто і іноді анемія стає мікроцитарної гіпохромної. АХЗ постійно супроводжується порушенням метаболізму заліза: гіпоферремія, деяким зниженням концентрації трансферину в крові та підвищенням феритину як у крові, так і в органах та тканинах.

Активація імунної системи при запальних, інфекційних та деяких онкологічних захворюваннях антигенними факторами індукує синтез прозапальних цитокінів (ІЛ-1, ФНП- α , ІЛ-6), інтерферонів. ІЛ-6 є основним індуктором синтезу гепсидину в печінки, що підвищується незалежно від стану еритропоетичної активності та змін в обміні заліза. Гепсидин є негативним регулятором як виведення заліза з макрофагів, так і всмоктування заліза тонкий кишечник. Результатом дії гепсидину є блокада заліза в макрофаги, гепатоцитах і ентероцитах, порушення передачі заліза трансферину та швидкий розвиток гіпоферремії. Оскільки всмоктування

заліза і мобілізація його з депо порушено, а клітини у кістковому мозку продовжують витрачати залізо на свої потреби, то плазмовий пул заліза швидко виснажується, викликаючи гіпоферремію. При тривалій гіпоферремії розвивається залізодефіцитний еритропоез.

Ряд цитокінів (ІЛ-1, ФНП- α , ТФР- β) пригнічують експресію гена еритропоетину (ЕПО) у клітинах нирок та печінки, у хворих на АХЗ відзначається неадекватно низька продукція ЕПО. При АХЗ проліферативна активність кістковомозкових еритроїдних клітин порушено. Підвищений гемоліз еритроцитів при АХЗ пов'язують з дією ІЛ-1 та ФНП- α .

Анемія при АХЗ частіше нормохромна нормоцитарна, рідше помірно гіпохромна або гіпохромно-мікроцитарна. Число ретикулоцитів нормальний або знижений, ретикулоцитарний індекс продукції знижений, що відображає знижену проліферативну активність кісткового мозку. Підвищено рівень протопорфірину в еритроцитах. Зміни метаболізму заліза характеризуються **перерозподільчим дефіцитом заліза** (Зниження сироваткового заліза, ОЖСС, трансферину, НТЖ та підвищення вмісту сироваткового феритину). Ферритін відноситься до острофазних білків, тому підвищений рівень сироваткового феритину при АХЗ може відбивати не тільки запас заліза в організм, але і з'явитися проявом острофазної відповіді, що обмежує його використання в якості показника визначення запасів заліза. У більшості випадків АХЗ підвищено і інші білки гострої фази. Кількість sTfR залишається стабільним при запальних процесах.

Анемія при хронічній нирковій недостатності. Анемія - один з найбільш характерних синдромів, супроводжуючих течія хронічної ниркової недостатності (ХНН). Ступінь виразності анемії не завжди корелює з уремією, тим не менше, при зниженні кліренсу креатиніну нижче 30 мл/хв величина гематокриту завжди нижча 30%.

Основне значення в розвитку нефрогенної анемії належить абсолютному або відносному дефіциту ендogenous еритропоетину (ЕЕПО). ЕПО відноситься до гемопоетичним факторів зростання, Котрий регулює

продукцію еритроцитів залежно від потреби організму в кисні. Інший важливою функцією ЕПО є запобігання апоптоза клітин-попередників еритропоезу на пізніх стадіях розвитку, тому недостатній рівень еЕПО наводить до збільшення об'єму неефективного еритропоезу, що підтверджується підвищенням кількості PAS-позитивних еритроїдних клітин в кістковому мозку. Недостатня продукція ЕПО у нирках є головним фактором розвитку нефрогенної анемії. Разом з тим, хоч і не вирішальну роль, у патогенезі анемії при ХНН грають уремичні токсини, які неспецифічно інгібують проліферацію і диференціювання еритрокаріоцитів. У якості передбачуваних інгібіторів еритропоезу виступають паратиреоїдний гормон, спермін і інші фактори.

У периферичній крові спостерігається анемія, яка має характер нормоцитарної нормохромної. Кількість ретикулоцитів при нефрогенній анемії зазвичай нормальне або незначно підвищено і залежить про ступеня активності кістковомозкового еритропоезу. на тлі тривалого гемодіалізу, внаслідок крововтрат, анемія може стати гіпохромний мікроцитарний. У мазках крові спостерігається пойкилоцитоз різної ступеня виразності з переважанням ехіноцитів (шипоподібні еритроцити). Лікування хворих ХНН препаратами рекомбінантного еритропоетин призводить до часткової корекції анемії, проте внаслідок стимуляції еритропоезу може розвинути ЖДА, що диктує необхідність досліджувати метаболізм заліза в динаміці проведення терапії РЕПО.

Апластичні анемії. Апластична анемія (АА) – захворювання, що характеризується різким пригніченням кістковомозкового кровотворення, гальмуванням процесів проліферації і диференціювання клітинних елементів з розвитком глибокої панцитопенії в периферичній крові. Апластичні анемії можуть бути уродженими і набутими. Вроджена форма АА (анемія Фанконі) поєднується з іншими спадковими аномаліями. Набуті форми АА пов'язані з дією іонізуючою радіації, лікарських препаратів (антибіотики, сульфаніламідні, антитиреоїдні, протисудомні, протитуберкульозні),

препарати золота, хімічні сполуки (бензол та його похідні, етильований бензин, пестициди), віруси гепатитів А, В, С, вірус Епштейна-Барр, цитомегаловірус, ВІЛ. Доведено здатність вірусів гепатиту А, В, С інгібувати зростання колоній та диференціювання клітин-попередників. Гепатитасоційована АА є наслідком імунної агресії в відношенні гемопоезу. Зміна функції тимусу нерідко супроводжується виникненням парціальної червоноклітинною аплазії. У більшості випадків АА етіологічний фактор залишається невідомим (*ідіопатичні АА*).

Критеріями діагнозу АА є:

- триросткова цитопенія: анемія ($Hb < 110 \text{ г/л}$), гранулоцитопенія (гранулоцити $< 2,0 \times 10^9/\text{л}$), тромбоцитопенія (тромбоцити $< 100 \times 10^9/\text{л}$);
- зниження клітинності кісткового мозку і відсутність мегакаріоцитів в пунктаті кісткового мозку;
- переважання жирового кісткового мозку по даними дослідження трепанобіоптату.

Еритропоез характеризується абсолютним зменшенням кількості еритрокаріоцитів і порушенням їх диференціювання. Кількість сидеробластів та сидероцитів у кістковому мозку значно зростає. Різко знижено кількість мегакаріоцитів, а в важких випадках вони можуть відсутня. Поразка кісткового мозку має осередковий характер. У місцях спустошення активний кістковий мозок заміщується жировою та/або фіброзною тканиною. Однак, навіть при вкрай тяжкому пригніченні гемопоезу можливі активні осередки кровотворення.

Периферична кров характеризується вираженою нормохромний анемією з різким зниженням концентрації Hb (25-80 г/л), кількості еритроцитів ($0,7-2,5 \times 10^{12}/\text{л}$), помірним анізоцитозом з тенденцією до макроцитозу, пойкилоцитоз. Характерним для АА є виражена лейкопенія (до $2,5-0,55 \times 10^9/\text{л}$) з абсолютною нейтропенією та відносним лімфоцитозом. У разі приєднання інфекції може спостерігатися зрушення вліво до мієлоцитів. Різко виражена тромбоцитопенія ($2-25 \times 10^9/\text{л}$), іноді у мазках периферичної

крові тромбоцити можуть бути відсутніми. У більшості випадків АА прискорено ШОЕ. На тлі частих гемотрансфузій при АА зміни в метаболізмі заліза характеризуються підвищенням змісту сироваткового заліза і НТЖ, що веде до розвитку гемосидерозу.

Мегалобластні анемії. B_{12} – дефіцитна анемія. При дефіциті вітамін B_{12} , попри на еритроїдну гіпоплазію кісткового мозку, продукцію еритроцитів знижено, що призводить до анемії. Це обумовлено різким підвищенням неефективного еритропоезу і руйнуванням еритроїдних попередників в кістковому мозку. Крім того, тривалість життя мегалобластів в 2-4 рази менше нормальною, тому більшість клітин, не дозріваючи, гинуть в кістковому мозку. Результатом мегалобластичного кровотворення є розвиток макроцитарної гіперхромної анемії (концентрація Hb може знижуватися до 25-40 г/л). Кількість еритроцитів різко знижено ($1,0-1,5 \times 10^{12}/л$). Відзначається високий колірний показник (1,1-1,4), збільшення середнього об'єму еритроцитів (MCV >100 фл) та середнього вмісту гемоглобіну в еритроциті (MCH >32 пг), при нормальних значеннях середньої концентрації гемоглобіну в одному еритроциті (MCHC)

Діагноз B_{12} -дефіцитної анемії може бути встановлений тільки при морфологічному дослідженні кісткового мозку, яке слід проводити до вступу вітамін B_{12} . Ін'єкція вітамін B_{12} протягом 1-2 діб змінює тип кровотворення у кістковому мозку. Мегалобласти зменшуються в розмірах, змінюється структура ядра, клітини стають макронормобластами. Тільки за присутністю гігантських форм нейтрофілів можна припустити, що мало місце мегалобластичне кровотворення.

Фолієводефіцитна анемія. Фолати, також як і вітамін B_{12} , займають ключове становище у багатьох видах клітинного метаболізму, включаючи синтез амінокислот та нуклеїнових кислот, особливо необхідних для проліферуючих клітин. Коензими фолієвий кислоти необхідні для утворення пуринових сполук, біосинтеза метіоніну.

Причини розвитку дефіциту фолієвий кислоти:

- Зниження змісту в їжі;
- Алкоголізм, голодування, «чай з бутербродами»;
- Тривала кулінарна обробка їжі;
- Порушення всмоктування;
- Хронічний ентероколіт, резекція тонкою кишки, діабетична ентеропатія;
- Алкоголізм, целиакія, тропічний спру, амілоїдоз;
- Недоношені діти, перебувають на штучному вигодовуванні;
- Підвищення потреби;
- Вагітність;
- Гемоліз, лейкози, рак, туберкульоз, гіпертиреоз;
- Зменшення запасів в печінки;
- Алкоголізм, цироз, гепатоцелюлярний рак;
- Лікарські препарати (порушення утилізації);
- Цитостатики;
- Контрацептиви;
- Протисудомні;
- Протитуберкульозні препарати;
- Препарати для лікування гіперліпідемії.

Зміни в крові і кістковому мозку аналогічні U_{12} -дефіцитній анемії. У сироватці відзначається зниження рівня фолату (норма 6-20 нг/мл), концентрація його зменшено і в еритроцитах (норма 160-640 нг/мл).

Гемолітичні анемії. Спадкові гемолітичні анемії, пов'язані з порушенням структури мембрани еритроцитів. Мікросфероцитарна гемолітична анемія (хвороба Мінковського-Шоффара) наслідується по аутосомно-домінантному типу, частіше зустрічається гетерозиготна форма. Поширена практично повсюдно, во всіх расових групах. Частіше всього хвороба проявляється в віці 3-15 років, можуть спостерігатися спорадичні форми мікросфероцитарної анемії. Найбільш поширена аутосомно-домінантна

форма, пов'язана з порушенням взаємодії спектрина з анкіріном і білком 4.2, або дефіцитом білка 4.2, або з комбінованим дефіцитом анкіріна і спектрину. Слабке взаємодія трансмембранних білків може наводити до фрагментації мембрани, зниження площі поверхні мембрани, підвищення її проникності, збільшення змісту в клітці осмотично активних речовин. Підвищена проникність мембрани еритроцитів для іонів натрію, води в кінцевому результаті змінює Об'єм клітини. Спадковий сфероцитоз - результат дефекту в будь-якому білку, що бере участь в формуванні вертикальної взаємодії між внутрішнім цитоскелетом, сформованому на спектрині, та трансмембранними білками. Циркуючі мікросфероцити мають низьку тривалість життя (до 12-14 днів), знижену осмотичну і механічну резистентність. Через 2-3 пасаж через селезінку сфероцит піддається фагоцитозу макрофагами (Внутрішньоклітинний гемоліз). Розвивається вторинна спленомегалія, яка посилює гемолітичний процес. Після спленектомії термін перебування сфероцитів в крові значно зростає.

Основний ознака захворювання - гемолітичний синдром, який проявляється жовтяниця, спленомегалією і анемією. Виникнення захворювання в дитячому віці порушує нормальний розвиток організму, результаті є виражені клінічні ознаки: деформація скелета(особливо черепа), рано відзначається збільшення селезінки, загальна відсталість розвитку (спленогенний інфантилізм). При гетерозиготної формі захворювання клінічні ознаки слабо виражені, але мають місце характерні морфологічні зміни еритроцитів (мікросфероцитоз) Гемолітичний криз виникає під впливом провокують факторів (інфекція, переохолодження, перевтома, вагітність і ін)

При вираженому некомпенсованому гемолізі анемія нормохромна. Еритроцити (мікросфероцити) характеризуються невеликим діаметром (у середньому 5 мкм), підвищеною завтовшки і нормальним об'ємом. Зміст гемоглобіну в еритроцитах в межах норми або трохи вище за неї. Кількість мікросфероцитів у період ремісії та при латентної форми хвороби не буває

високим, у той час як у період кризи гемоліз може супроводжуватися збільшенням їх до 30% і вище. Мікросфероцити в мазках крові мають невеликий розмір, гіперхромні без центрального просвітлення. У період гемолітичного кризу кількість ретикулоцитів досягає 50-80% і більше, в період ремісії - не перевищує 2-4%. Ретикулоцити мають великим діаметром при нормальною товщина. Можуть з'являтися еритрокаріоцити. Одним з характерних ознак захворювання є зниження осмотичної стійкості еритроцитів. Зазначається зниження гаптоглобіну. Наслідки високого гемолізу: білірубінемія з переважанням некон'югованого білірубину, в сечі збільшено зміст уробіліногену, сеча має коричнево-червоний відтінок, калові маси різко забарвлені через великий кількості стеркобіліногену.

Спадкові гемолітичні анемії, зумовлені порушенням структури ліпідів мембрани еритроцитів (Акантоцитоз) - рідкісне захворювання, успадковується за аутосомно-рецесивним типом. Спадковий акантоцитоз виявляється при абеталіпопротеїнемії. Зниження змісту холестерину, тригліцеридів, фосфоліпідів у крові відбивається на ліпідному складі мембрани еритроцитів - в них знижено концентрація лецитину, фосфатидилхоліну, підвищено зміст сфінгомієліну; рівень холестерину нормальний, або підвищений, а зміст фосфоліпідів нормальне або зменшено. Еритроцити набувають зубчастий контур, схожий на листя аканта. Аномальні еритроцити руйнуються головним чином в селезінці внутрішньоклітинний гемоліз.

Спостерігається нормохромна нормоцитарна анемія. Основним морфологічною ознакою цієї форми гемолітичної анемії є еритроцити із зубчастим контуром (акантоцити), які можуть становити до 40-80% еритроцитів. Відзначається ретикулоцитоз.

Спадкові гемолітичні анемії, обумовлені порушенням синтезу глобінових ланцюгів. Розрізняють кількісні і якісні гемоглобінопатії. При кількісних гемоглобінопатія відбувається порушення співвідношення звичайних ланцюгів глобіну. Якісні гемоглобінопатії - захворювання, при

яких генетична аномалія наводить до синтезу гемоглобіну з зміненою структурою глобіну.

Таласемії - гетерогенна група спадково обумовлених захворювань, в основі яких лежить порушення синтезу однієї з поліпептидних ланцюгів глобіну, що наводить до збільшення продукції інших ланцюгів та розвитку дисбалансу між ними. Таласемії відносять до кількісним гемоглобінопатіям, оскільки структура ланцюгів гемоглобіну не змінено. Ланцюги, що синтезуються в надмірній кількості, накопичуються і відкладаються в еритрокаріоцитах кісткового мозку і еритроцитах периферичної крові, викликаючи пошкодження клітинної мембрани і передчасну загибель клітин. Еритрокаріоцити гинуть в селезінці, кістковому мозку. Анемія супроводжується невеликим підвищенням ретикулоцитів. Дисбаланс синтезу глобінових ланцюгів викликає розвиток неефективного еритропоезу, внутрішньоклітинний гемоліз еритроцитів периферичної крові, спленомегалію і розвиток гіпохромний анемії різної ступеня тяжкості.

Частіше зустрічаються β -таласемії, серед яких виділяють дві основні форми: важку середземноморську форму, при якій синтезується близько 10% нормальною ланцюги (велика таласемія, анемія Кулі) та легшу негритянську форму, коли зберігається близько 50% синтезу нормальною β -ланцюги. Для всіх β -таласемій загальним є внутрішньоклітинний гемоліз еритроцитів, неефективний еритропоез в кістковому мозку та спленомегалія.

Спадкові гемолітичні анемії, обумовлені носієм аномального гемоглобіну. Серповидноклітинна анемія (гемоглобінопатія S) - якісна гемоглобінопатія. Аномаліяструктури гемоглобіну при серповидноклітинний анемії полягає в заміні в β -ланцюги глютамінової кислоти на валін, що призводить до посилення зв'язку однієї молекули гемоглобіну з інший. Гемоглобінопатія S частіше розвивається у осіб, мешкають в країнах, де поширена малярія (Середземномор'я, Африка, Індія, Середня Азія). Заміна однієї амінокислоти на іншу супроводжується важкими фізико-хімічними змінами гемоглобіну і веде до деполімеризації HbS. Дезоксигенація викликає

відкладення молекул аномального гемоглобіну у вигляді монониток, які агрегують, перетворюючись в кристали довгастою форми, змінюючи тим самим мембрану та форму еритроцитів у вигляді серпів. Середня тривалість життя еритроцитів при анемії, гомозиготний по гемоглобіну S становить близько 17 днів. Водночас така аномалія робить ці еритроцити непридатними для життєдіяльності плазмодій, носії гемоглобіну S не хворіють малярією, що шляхом природного відбору привело до поширенню цієї гемоглобінопатії в країнах «малярійного пояси».

Хвороба характеризується гемолітичними кризами з внутрішньосудинним гемолізом, тому частим ускладненням бувають тромбози дрібних і великих судин різних органів. У крові невиражена нормохромна анемія. При гемолітичному кризі спостерігається різке падіння гемоглобіну і гематокриту, ретикулоцитоз, нормобластоз, тільця Жоллі, серповидні еритроцити, базофільна пунктація, мішенеподібні еритроцити, пойкилоцитоз, лейкоцитоз, тромбоцитоз, підвищення ШОЕ, підвищення некон'югованого білірубіну. Сеча чорного кольору за рахунок гемоглобінурії, виявляється гемосидерін.

Гемолітичні анемії, обумовлені носієм аномальних стабільних гемоглобінів C, D, E. досить поширена форма. У HbC глютамінова кислота в положенні 6 замінена лізином, що веде до його кристалізації. У HbE глютамінова кислота в становищі 26 замінена лізином, в HbD глютамінова кислота в становищі 121 замінена на глутамін. Гетерозиготні форми протікають без клінічних проявів. У гомозигот клінічна симптоматика обумовлена анемією: характерні легка гемолітична анемія, жовтяниця, спленомегалія. Анемія носить нормоцитарний характер, у крові багато мішенеподібних клітин. Характерна схильність до кристалізації молекул гемоглобіну. Поєднання всіх 3 видів гемоглобінопатій з таласемією дає важку клінічну картину. HbC поширений серед афроамериканців та африканців ПАР, HbE найчастіше зустрічається в Південно-Східної Азії і серед африканців.

Спадкові гемолітичні анемії, обумовлені дефіцитом ферментів еритроцитів. Гемолітичні анемії, обумовлені дефіцитом ферментів еритроцитів (несфероцитарні гемолітичні анемії), частіше всього пов'язані з дефектами глюкозо-6- фосфатдегідрогенази, піруваткинази або глутатіон-редуктази. Ферментопатії з дефектами інших метаболічних шляхів рідкісні та не мають практичного значення в виникненні гемолітичних анемії.

Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа (Г-6-ФД) - єдиний фермент пентозофосфатного шляхи, первинний дефіцит якого веде до гемолітичної анемії. Це сама поширена еритроцитарна ферментопатія. Вона превалює серед жителів басейну Середземного моря, Південно-Східної Азії, Індії. Ген синтезу Г-6-ФД зчеплений з Х- хромосомою, тому захворювання проявляється значно частіше у чоловіків. Провокуючими факторами гемолітичного криза можуть бути інфекційні захворювання (грип, сальмонельоз, вірусний гепатит), вживання в їжу кінських бобів (фавізм), вдихання квіткового пилку. Гемолітичний криз може бути спровокований прийомом деяких лікарських препаратів, частіше всього протималярійних, сульфаніламідних, протиглистних препаратів. Клінічні симптоми можуть виникати на 2-3 доба від початку прийому препарату. Першими симптомами зазвичай бувають іктеричність склер і темна сеча. Припинення прийому ліки виключає розвиток важкого гемолітичного криза. У протилежному випадку на 4-5 доба виникає гемолітичний криз з виділенням сечі чорного або бурого кольору - результат внутрішньосудинного гемолізу еритроцитів.

У період криза кількість гемоглобіну знижується до 20-30 г/л, збільшується кількість ретикулоцитів, лейкоцитів зі зрушенням лейкоцитарний формули вліво до мієлоцитів. Кількість тромбоцитів звичайно змінюється. При тяжкому гемолітичному кризі може виявлятися велике кількість тілець Гейнца-Ерліха, як результат преципітації ланцюгів глобіну і білків мембрани еритроцитів. Відзначається анізоцитоз, пойкилоцитоз, поліхроматофілія, базофільна пунктація, тільця Жоллі. У сироватці крові підвищується зміст вільного гемоглобіну

(Внутрішньосудинний гемоліз), часто збільшується концентрація некон'югованого білірубіну, спостерігається гіпогаптоглобінемія. У сечі - гемоглобінурія, гемосидерінурія. Діагностика заснована на визначенні рівня ферменту Г-6-ФД.

Піруваткиназа на заключному етапі гліколізу каталізує утворення АТФ. Дефіцит піруваткинази може призвести до зниження еритроцитах АТФ і накопиченню проміжних продуктів гліколізу, які утворюються на попередніх етапах. Захворювання характеризується помірною або важкої гемолітичної анемією з внутрішньоклітинний гемоліз. Спленомегалія спостерігається майже постійно, іноді і у гетерозиготних носіїв, хоча анемія у них, як правило, Відсутнє. Гемолітичний криз провокується інфекцією, важкої фізичної навантаженням, вагітністю, гемоліз посилюється во час менструацій.

У крові в більшості випадків має місце нормохромна несфероцитарна анемія з незначним анізоцитозом та пойкилоцитозом. Кількість гемоглобіну і еритроцитів може бути нормальним, зниженим, можлива виражена анемія (Hb 40-60 г/л), еритроцитарні індекси наближаються до нормі. Нерідко в мазках виявляються поліхроматофілія і еритроцити з базофільної пунктацією, іноді мішенеподібні еритроцити, еритрокаріоцити. Ретикулоцитоз у період кризи може досягати 70%. У сироватці крові при гемолітичному кризі підвищений некон'югований (непрямий) білірубін.

Анемії, обумовлені позаеритроцитарними факторами.

Імунні гемолітичні анемії – розвиваються внаслідок утворення антитіл до еритроцитарним антигенів. Виділяють дві основні форми – алоімунні і аутоімунні гемолітичні анемії. Процес імунного гемолізу еритроцитів пов'язаний із взаємодією IgM або IgG з антигенами мембрани еритроцитів, після чого еритроцит руйнується макрофагами, переважно у селезінці. Такий вид імунного гемолізу характеризується внутрішньоклітинним руйнуванням еритроцитів та зустрічається частіше всього. У випадку приєднання комплекменту до Fc-фрагменту імуноглобуліну і наступною активації системи

комплементу відбувається переважно внутрішньосудинний гемоліз, показниками якого є гемоглобінемія, гемоглобінурія і гемосидеринурія.

Аутоімунні гемолітичні анемії (АІГА) обумовлені наявністю антитіл до антигенів еритроцитів. за течії АІГА поділяються на гострі і хронічні. на підставі серологічної Характеристики антитіл і клінічних проявів виділяють 4 види АІГА:

- аутоімунні гемолітичні анемії з неповними тепловими аглютинінами (47-80%) всіх АІГА);
- аутоімунні гемолітичні анемії з тепловими гемолізин;
- аутоімунні гемолітичні анемії з холодоаглютинінами (12%);
- аутоімунні гемолітичні анемії з двофазними гемолізинами.

всі аглютиніни поділяються на повні і неповні. Неповні аглютиніни відрізняються тим, що не дають аглютинації, якщо еритроцити знаходяться в водно-сольовий середовище. Повні аглютиніни дають аглютинацію в будь-який середовище. Неповні антитіла мають меншою, по порівнянні з повними антитілами, молекулярної масою. У зв'язку з цим клінічна картина цих форм гемолітичної анемії відрізняється від інших форм.

АІГА діагностують по наявності аутоантитіл, фіксованих на еритроцитах з допомогою проби Кумбса, при якій антиглобулінові антитіла вступають во взаємодія з імуноглобулінами еритроцитів (пряма реакція Кумбса) та викликають аглютинацію еритроцитів. Можна, можливо виявляти циркулюючі антитіла в сироватці крові непрямий пробій Кумбса, змішуючи сироватку з еритроцитами донора. Як правило, вираженість прямої реакції Кумбса тісно корелює з кількістю IgG, фіксованих на еритроцитах. Негативна проба Кумбса не виключає АІГА, вона може бути негативно при інтенсивному гемолізі, масивній гормональної терапії, низькому титрі антитіл. Еритроцити, на яких крім Ig фіксований комплемент, що швидше видаляються з кровотоку. В цьому У процесі беруть участь макрофаги печінки та селезінки. При відсутності комплементу на поверхні еритроциту, вирішальну роль у гемолізі грають молекули Ig. Основним місцем деструкції

еритроцитів є селезінка. Цим пояснюється висока ефективність спленектомії при АІГА з неповними тепловими аглютинінами, коли має місце опсонізація еритроцитів Ig, та відсутність ефекту від операції при АІГА з повними холоддовими аглютинінами, при якій еритроцити сенсibiliзовані комплементом і руйнуються в макрофагах печінки.

Гемолітичні анемії, обумовлені соматичною мутацією клітин-попередників гемопоезу. Пароксизмальна нічна гемоглобінурія (хвороба Маркіафава-Мікелі). Виникає хвороба в будь-якому віці, але зустрічається в осіб переважно середнього віку. Причиною підвищеного гемолізу еритроцитів є дефект мембрани еритроцитів, лейкоцитів і тромбоцитів, обумовлений соматичною мутацією в стовбурових кровотворних клітинах гена *rig-A*, відповідального за синтез глікозилфосфатидилінозитолового якоря (GPI), через котрий більшість поверхневих молекул (CD55, CD59, CD14, CD16, CD58 і ін) прикріплюються до клітинної мембрани. GPI-AP білки функціонують як ферменти, рецептори, регулятори комплементу та адгезивні молекули. Зниження експресії GPI-пов'язаних білків підвищує чутливість еритроцитів до гемолітичного ефекту комплементу. Еритроцити піддаються внутрішньосудинному гемолізу, носить кризовий, періодичний характер. Експресію CD14 і CD48 визначають на моноцитах, CD16 і CD66b – на гранулоцитах, CD48 і CD52 – на лімфоцитах, CD55 і CD59 – на еритроцитах, CD55, CD58 і CD59 – на тромбоцитах. Знижена їхня експресія свідчить в користь ПНГ.

Відмітні ознаки захворювання – нічні гемолітичні кризи, супроводжуються виділенням сечі бурого кольору (гемоглобінурія, гемосидеринурія). Кризи виникають спонтанно, або провокуються інтеркурентними інфекціями, у тому числі вірусними, гемотрансфузіями, стимуляторами еритропоезу (наприклад, вітамін U_{12}), лікарськими препаратами, перевтомою. Інтервали між кризами бувають різні: можуть повторюватися щодня, щотижня, щорічно протягом Кілька років або швидко призводять до загибелі хворого. Гепатомегалія та спленомегалія не

характерні для хвороби Маркіафави-Мікелі, проте вони можуть спостерігатися у зв'язку з розвитком посттрансфузійного гемосидерозу органів, при тромбозах системи селезінкових вен, застійному повнокровності, інфаркт селезінки. Схильність до тромбозів судин, поряд з тромбоцитопенією, є частими ускладненнями хвороби.

Гемолітичні анемії, обумовлені механічним ушкодженням еритроцитів. При надмірному впливі сил зсуву і турбулентності, в периферичній крові з'являються фрагменти еритроцитів незвичайної форми (трикутні, шоломоподібні і ін), вони служать основою встановлення діагнозу. Через присутність подібних фрагментів еритроцитів MCV знижується, а RDW збільшується (прояв анізоцитозу). Джерело травмування може перебувати поза судин (маршева гемоглобінурія), всередині серця (обвапнення і стеноз аортального клапана або дефекти протезів клапанів серця), в артеріолах (Злоякісна артеріальна гіпертензія), в кінцевих артеріолах (ДВС- синдром). При мікроангіопатичній гемолітичній анемії, що виникає через травматичної фрагментації еритроцитів при проходженні через штучні клапани серця або пошкоджені кровоносні судини, анемія може бути різкою з фрагментованими еритроцитами (шизоцити, шоломоподібні еритроцити).

Підвищений гемоліз супроводжується лейкоцитозом із нейтрофільним зрушенням і вираженою тромбоцитопенією. Виявляється низький рівень фібриногену, протромбіну, VII і X факторів плазми, які свідчать про коагулопатію споживання.

Маршева гемоглобінурія . Гемоліз внутрішньосудинний в результаті механічного ушкодження еритроцитів в капілярах стоп. Часто єдиним симптомом хвороби є мінуща гемоглобінурія з появою сечі чорного кольору. Інтенсивність гемоглобінурії і інтервали між нападами залежать від тяжкості поразки і навантаження.

Хімічні отрути . Внутрішньосудинний гемоліз еритроцитів можуть викликати отрути органічного та неорганічного походження (сапонін,

фенілгідразин, миш'як, свинець, отруєння грибами та ін).

Опікова хвороба. Гемоліз еритроцитів при опіковій хвороби спостерігається у разі ураження 20% поверхні тіла та має складний генез. Ознаки гемолізу виявляються не відразу. Вони маскуються згущенням крові внаслідок шокового стану і втрати плазми безпосередньо після опіку. У післяшоковому періоді у фазі компенсованої гідремії відзначається зниження еритроцитів і гемоглобіну. Гемоліз може супроводжуватися жовтяниця, а в важких випадках - гемоглобінемією і гемоглобінурії з розвитком гострою нирковою недостатності.

Гемобластози

Гемобластози - група пухлин, виникає їх кровотворних клітин. Гемобластози поділяють на 3 групи:

Лейкози – злоякісні пухлини кровотворної тканини з первинною локалізацією в кістковому мозку. Злоякісною трансформації піддаються стовбурові кровотворні клітини або комітовані клітини-попередниці.

Гематосаркоми - позакостомозкові, спочатку локальні пухлини переважно в лімфатичних вузлах, представлені розростанням бластних клітин, що утворюють солідні пухлини з можливою генералізацією в кровотворні органи, включаючи кістковий мозок

Лімфоми - пухлини, перебувають з зрілих лімфоцитів і утворенні розростанням тканини лімфовузлів без масивного поразки кісткового мозку

Гострі лейкози. Класифікація гострих лейкозів. Гострі лейкози діляться на дві групи: мієлоїдні та лімфоїдні. Гострі лімфобластні лейкози реєструються у 80% випадків у дітей і лише у 20% – у дорослих. на частку гострих мієлоїдних лейкозів (ГМЛ) доводиться 15-20% всіх гострих лейкозів (ГЛ) у дітей в віці до 15 років, і згори 80% - у дорослих. Клінічні прояви ГЛ різноманітні і визначаються механізмами розвитку захворювання.

Діагноз ГЛ - виключно морфологічний, що встановлюється при виявленні в крові та/або кістковому мозку бластних клітин. У мієлограмі відзначається збільшення числа бластів (понад 20%), яке супроводжується

пригніченням проліферації елементів еритропоезу і тромбоцитопоезу.

Гострі мієлоїдні лейкози. Гострі мієлоїдні лейкози (ГМЛ) зустрічаються найбільш часто у осіб старше 60 років. Морфологічні і цитохімічні дослідження визначають сучасну діагностику і класифікацію гострих лейкозів. Згідно франко-американсько-британської класифікації (ФАБ-класифікації) виділено 8 варіантів ГМЛ (Табл. 17).

Таблиця 17

ФАБ-класифікація гострих мієлоїдних лейкозів

Позначення	Назва	Характеристика
M ₀	ГМЛ з мінімальною диференціацією	Відсутність дозрівання, активність мієлопероксидази менше 3%, є імунологічні маркери мієлоїдної диференціації
M ₁	ГМЛ без дозрівання	Кількість бластів перевищує або дорівнює 90% нееритроїдних клітин, активність мієлопероксидази менше 3%
M ₂	ГМЛ з дозріванням	Більше 10% мієлоїдних клітин мають ознаки дозрівання до промієлоцитів, кількість моноцитів менше 20%
M ₃	Гострий промієлоцитарний лейкоз	Домінуючі клітини - промієлоцити з вираженою атипією
M _{3a}	Гострий промієлоцитарний лейкоз	Домінуючі клітини – промієлоцити з мікрогрануляцією і різко позитивною реакцією на мієлопероксидазу
M ₄	Гострий мієломоноцитарний лейкоз	Кількість мієломоноцитарних бластних клітин з моноцитарним компонентом більше 20% і менше 80%
M _{4E0}	Гострий мієломоноцитарний лейкоз	Варіант M ₄ з атиповими еозинофілами (>5%)
M _{5a}	Гострий монобластний лейкоз	Кількість монобластів в кістковому мозку >80%
M _{5b}	Гострий монобластний лейкоз	Кількість монобластів і моноцитів в кістковому мозку < 80%
M ₆	Гострий еритроїдний лейкоз	Частина еритробластів серед нуклеарів в кістковому мозку ≥50%, частина бластів серед нееритроїдних клітин - більше 30%
M ₇	Гострий мегакаріоцитарний лейкоз	Морфологічні риси мегакаріобластів, CD4V, CD6V

Диференціація гострих мієлоїдних лейкозів (M1-M5 та більшості випадків M6) проводиться на підставі морфології та цитохімії, які дозволяють охарактеризувати лінійну спрямованість диференціювання лейкозних клітин (гранулоцитарна, моноцитарна, еритроїдна) і визначити ступінь цієї диференціювання. Морфологічна знахідка, високоспецифічна для гострого мієлобластного лейкозу – палички Ауера. Якщо реакція на мієлопероксидазу негативна, що характерно для варіанти M0, і виявляють палички Ауера, необхідно виставити діагноз гострого лейкозу варіанта M1. При варіантах M1 та M2 з t(8;21) часто спостерігають довгі ніжні ниткоподібні палички Ауера; при варіанті M3 в цитоплазмі можна, можливо побачити пучки цих паличок.

Імунологічні ознаки мієлоїдної диференціювання включають нелінійні маркери гемопоетичних попередників CD34 та HLA-DR, панмієлоїдні маркери CD13, CD33 та CD65; маркери, асоційовані з моноцитами та гранулоцитами CD14 та CD15; лінійні мегакаріоцитарні маркери CD41 і CD61; внутрішньоклітинну мієлопероксидазу. Тільки імунологічне фенотипування дозволяє встановити мегакаріоцитарну диференціювання бластів і провести диференціальну діагностику з ГЛЛ, M0, M6 варіантами ГМЛ, метастазами в кістковий мозок дрібноклітинних злоякісних пухлин (Табл. 18). Атипові клітини експресують антигени CD41a та/або CD42b та/або CD61. Найчастіше на бластних клітинах виявляється експресія мієлоїдних антигенів CD13, CD33, зустрічаються лінійно необмежені антигени - HLA-DR, CD38, CD34.

З мегакаріобластним лейкозом можуть бути пов'язані аномалії хромосоми 3 – inv(3), t(3;3), t(9;22), трисомія хромосоми 21.

Імунологічна характеристика ГМЛ

Показники	M ₀	M ₁ /M ₂	M ₃	M ₄	M ₅	M ₆	M ₇
МПО	+/-	+	+	+	-/+	-/+	-
CD117	+/-	+	+	+	+/-	-	-
CD13	+/-	+	+	+	+/-	-	+/-
CD14	-	-	-	+/-	+/-	-	-
CD64	-	+/-	+/-	+	+	+/-	-
CD15	-	+/-	-/+	+/-	+	-	-
CD33	+/-	+/-	+	+	+	+	+
CD34	+/-	+/-	-	-/+	-	-	-
CD41	-	-	-	-	-	-	+
CD61	-	-	-	-	-	-	+
Глікофорин А	-	-	-	-	-	+	-
HLA-DR	+/-	+	-	+	+	-	+

- - негативна реакція, -/+ - експресія антигену відзначається в менше 50% випадків,

+/- експресія антигену відзначається в більше 50% випадків, + – позитивна реакція

Дослідження методом проточної цитофлюорометрії у діагностиці гострого мієлобластного лейкозу суттєво у випадках, коли необхідна верифікація варіантів M₀ і M₁, а також у діагностиці біфенотипного лейкозу. Крім того, метод дозволяє розмежувати варіанти M₀ та M₁, а також варіанти з гранулоцитарним диференціюванням - M₂ та M₃.

Найбільшу важливість набули цитогенетичних характеристик, саме вони визнані вирішальними прогностичними факторами. Цитогенетичні зміни в лейкомічних клітинах виявляють у 55-78% дорослих пацієнтів та у 77-85% дітей. Нижче наведено опис найбільш частих і значимих в клінічному відношенні хромосомних аберацій при гострій мієлобластний лейкозі і їх прогностичне значення.

Найчастіша хромосомна аберація – t(8; 21)(q22;q22), у 90% випадків t(8;21) асоційована з варіантом M₂, 10% – з M₁. Транслокацію t(8;21)

відносять до аберацій «сприятливого прогнозу». Її виявляють у 10-15% дітей з гострим мієлобластним лейкозом.

Транслокація - $t(15; 17)(q22;q12)$ з утворенням химерного гена *PML-RARa*, складає 6-12% всіх випадків гострого мієлобластного лейкоза у дітей; при варіанті $M3$ вона дорівнює 100%. Транскрипт *PML-RARa* – маркер лейкемії. У пацієнтів, досягли ремісії, його не виявляють, а повторне його виявлення під час морфологічної ремісії – провісник клінічного рецидиву гострого промієлоцитарного лейкозу. Інверсія хромосоми 16 - $inv(16)(p13;q22)$ - і її різновид $t(16;16)$ характерні для мієломоніцитарного лейкозу з еозинофілією $M4 E_0$, хоча спостерігаються і при інших варіантах гострого мієлобластного лейкозу.

Регіон 23 довгого плеча одинадцятої хромосоми досить часто стає ділянкою структурних реаранжувань у дітей з гострим лейкозом як лімфобластним, так і мієлобластним. При первинному гострий мієлобластний лейкоз аномалію $11q23$ виявляють у 6-8% хворих, при вторинному – у 85%.

Інверсія $inv(3)(q21q26)/t(3;3)(q21;q26)$ описано при всіх варіантах гострого мієлобластного лейкозу, за винятком $M3 / M3v$ та $M4 E_0$. Незважаючи на відсутність зв'язку між певним FAB-варіантом і інверсією хромосоми 3, у більшості хворих у кістковому мозку виявляють загальні морфологічні ознаки: збільшення числа мегакаріоцитів і численні мікромегакаріоцити.

Транслокація $t(6; 9)(p23;q34)$ описано більше чим у 50 пацієнтів з гострим мієлобластним лейкозом. У більшості випадків це єдина Хромосомна аномалія. Дещо частіше $t(6;9)$ виявляють у пацієнтів з $M2$ та $M4$ варіантами, хоча зустрічається вона при всіх формах гострого мієлобластний лейкоз.

Транслокація $t(8; 16)(p11;p13)$ описано у 30 хворих гострим мієлолейкозом, переважно при варіантах $M4$ і $M5$. Найчастіше аномалію виявляють у юних пацієнтів, в том числі у дітей до року.

Гострі лімфобластні лейкози. Гострі лімфобластні лейкози (ГЛЛ) - гетерогенна група захворювань, кожне з яких має клінічні, імунологічні і прогностичні особливості. ГЛЛ у дітей складає до 75% гемобластозів і до 25% всіх пухлин. Порівняння ФАБ та ВООЗ класифікацій ГЛЛ представлено у табл. 3.19. За наявності в кістковому мозку менше 20% бластних клітин стан розцінюється як лімфобластна лімфома.

Таблиця 19

Порівняння ФАБ і ВООЗ класифікацій ГЛЛ

ФАБ-класифікація	ВООЗ-класифікація
>30% бластів	>20% бластів
L1/L2 морфологія	Пре - В -ГЛЛ (цитогенетичні підгрупи)
Морфологічний різновид різний	t(9;22)(q34;q11.2) <i>BCR/ABL</i> t(V;11)(V;q23) MLL реарранжування t(1;19)(q23;p13.3) E2A/PBX1 t(12;21)(p13;q22) ETV6/RUNX1 (TEL/AML1) Гіподиплоїдія <46 хромосом Гіпердиплоїдія >50 хромосом Пре - Т -ГЛЛ (цитогенетичні підгрупи t (V ; 14)(V ; q 11–13)
L3	Беркітгоподібний лейкоз

Цитохімічні ознаки бластних клітин при ГЛ: лімфобласти характеризуються позитивною PAS-реакцією, виявляється в >3% клітин у вигляді дрібних або великих гранул, що іноді зливаються в блоки, і негативною реакцією на МПО та хлорцетатестеразу. Реакція на ліпіди частіше всього негативна.

Найбільш інформативним і вирішальним методом діагностики ГЛЛ є проточна цитофлуориметрія з використанням моноклональних антитіл, яка дозволяє встановити лінійну спрямованість бластних клітин, а також стадію диференціювання всередині кожною лінії, діагностувати біфенотипові і білінійні ГЛ. Сучасна діагностика ГЛЛ повинна включати цитогенетичне і

молекулярно- генетичне дослідження для ідентифікації клінічно значимих генетичних хромосомних аберацій.

Згідно пропозиції Європейської групи по вивченню гострих лейкозів всі ГЛЛ поділяють на дві групи: В- і Т-лінійний спрямованості, які, в свою черга, поділяються на підтипи в залежності від стадії нормальною диференціювання лімфоцитів (Табл. 3.20).

Найбільш сприятливим вважається В-II (*common*) варіант ГЛЛ, частіше всього зустрічається у дітей. Несприятливими прогностичними факторами течії ГЛЛ є: вік менше 1 року, наявність Ph- хромосоми, раннє поразка центральної нервової системи, поширеність пухлинного процесу, Т-клітинний різновид ГЛЛ.

Таблиця 20

Імунологічна класифікація ГЛЛ (EGIL, 1995)

Фенотип	Антигени
В-лінійні*:	-
В-I (про-В) ГЛЛ	CD 19+ та/або CD 79 а + та/або CD 22+цитоплазматичний
В-II (<i>common</i>) ГЛЛ	CD10+
В- III (Пре-В) ГЛЛ	Цитоплазматичний μ -ланцюг+
В- IV (зрілий-В) ГЛЛ	Поверхневий IgM моноклональний по κ -або λ -типу
	Більшість випадків Tdt +, HLA - DR +, крім В - IV, Котрий часто Tdt-
Т-лінійні:	Цитоплазматичний або мембранний CD3+
Т-I (про-Т) ГЛЛ	CD7+
Т - II (пре-Т) ГЛЛ	CD 2+ та/або CD 5+ та/або CD 8+
Т - III (кортикальний Т) ГЛЛ	CD1a+
Т - IV (зрілий Т) ГЛЛ	Мембранний CD3+,CD1a-

*Позитивні з двома з трьох маркерів

Змішані гострі лейкози. Гострі лейкози, при яких пухлинні клітини мають ознаки більше однієї лінії диференціювання, наприклад, лімфоїдний і мієлоїдний, називаються змішано-лінійними, гібридними, біфенотиповими. Коекспресію маркерів різних ліній пояснюють тим, що лейкемогенез - це не абсолютний блок клітинної диференціювання, а об'єднання безладдя дозрівання та проліферації, дає можливість експресії антигенів, які у нормі відсутні. Описано дві категорії змішаних ГЛ - ГЛЛ з мієлоїдно-асоційованими антигенами (*My +ALL*) і ГМЛ з лімфоїдно-асоційованими антигенами (*Ly +AML*). Нижче представлені критерії для класифікації цих варіантів ГЛ:

- **при В-лінійному *My +ALL* бласні клітини повинні обов'язково експресувати:**

- CD79а або сIg μ або CD19 та CD22;
- CD3-;
- MPO-;
- CD13, CD15, CD33 або CD65.

- **при Т-лінійному *My+ALL* бласні клітини повинні обов'язково експресувати:**

- CD7 і CD3 (поверхневий або цитоплазматичний);
- CD79а-;
- MPO-;
- CD13, CD15, CD33 або CD65.

- **при *Ly+AML* бласні клітини повинні обов'язково експресувати:**

- MPO або експресія не менше двох інших мієлоїдних маркерів;
- CD3-;
- CD79а-;
- CD2, CD5, CD7 CD19 CD22 або CD56.

Мієлодиспластичні синдроми

Термін мієлодиспластичні синдроми (МДС) об'єднує групу прогресуючих, незворотних пухлинних захворювань ствольний кровотворної

клітини, що характеризуються довго існуючими цитопеніями крові при гіпер- або нормоклітинному кістковому мозку, якісними (диспластичними) змінами всіх мієлоїдних паростків, схильністю до трансформації в гострий нелімфобластний лейкоз. Захворюваність МДС досить висока - в середньому 3,5-7,7 на 100 000 населення на рік, у віковій групі старше 70 років – близько 50 на 100000. МДС – хвороба літніх людей: більше 80% випадків в віці старше 60 років, не більше 10% – у віці до 50 років.

У результаті придушення нормального кровотворення, прискореною загибелі та функціональної неповноцінності клітин патологічного клону розвиваються основні клінічні прояви захворювань, об'єднаних в групу МДС:

- анемія (у 85-90% випадків);
- нейтропенія (у 50% хворих, є причиною виникнення інфекційних захворювань у 10-40%);
- тромбоцитопенія (Наводить до кровоточивості у 25-70% хворих);
- схуднення і лихоманка.

Вирішальне значення в діагностики МДС мають дані лабораторних досліджень крові та кісткового мозку.

Діагностична тріада МДС:

- хронічна рефрактерна цитопенія;
- підвищена клітинність кісткового мозку;
- дисплазія одного або декількох паростків гемопоезу. Диспластичні зміни клітин крові спостерігаються не тільки при

МДС, але і при вплив ряду лікарських речовин і токсичних препаратів, проникаючого випромінювання, у осіб, інфікованих ВІЛ, у хворих вірусними гепатитами, туберкульозом, при лейкози, дефіцит вітаміну В12 та фолієвої кислоти. Зазвичай при МДС кістковий мозок буває гіпер- або нормоклітинним, проте приблизно в 10% випадків спостерігається його гіпоплазія, що потребує диференціальної діагностики з апластичною анемією. Гістологічний дослідження трепанобіоптату кісткового мозку обов'язково

при діагностики МДС, оскільки дозволяє достовірно оцінити клітинність кісткового мозку, а також виявити характерні особливості, в зокрема атипову локалізацію мієлоїдних попередників (АЛМП) в центральних відділах кістковомозкових порожнин, а не поблизу кісткових балок.

ФАБ-класифікація була розроблена на початку 80-х років минулого століття, основним критерієм в даній класифікації було відсоткове зміст бластних клітин в кістковому мозку, при цьому відсоткове зміст цих клітин менше 2% вважалося нормальним для здорового кісткового мозку. Згідно з ФАБ-класифікацією розрізняються наступні п'ять підтипів МДС:

- рефрактерна анемія (РА);
- рефрактерна анемія з кільцевими сидеробластами (РАКС);
- рефрактерна анемія з надлишком бластів (РАІБ);
- рефрактерна анемія з надлишком бластів в трансформації (РАІБ-Т);
- хронічний мієломоноцитарний лейкоз (ХММЛ).

Система класифікації ВООЗ для МДС у дорослих хворих зберігає деякі елементи системи ФАБ-класифікації та розширює категорії підтипів МДС. Основні Характеристики підтипів МДС, розрізняються системою класифікації ВООЗ, наведено в табл. 3.21.

Таблиця 21

ВООЗ-класифікація МДС

Підтип МДС	Характеристика
Рефрактерна анемія (РА).	Мінімальна дисплазія в одному типі клітин крові (червоних кров'яних тільцях або еритроцитах) і <5 % бластів в кістковому мозку
Рефрактерна анемія з кільцевими сидеробластами (РАКС).	Дисплазія тільки еритроїдного паростка і >15% кільцевих сидеробластів
Рефрактерна цитопенія з мультилінійний дисплазією	Дисплазія (>10%) в двох або трьох типах клітин крові, <5 % бластів та <15% кільцевих сидеробластів у кістковому мозку (кількість

(РЦМД).	кільцевих сидеробластів >15% називається РЦМД-КС)
Рефрактерна анемія з надлишком бластів (РАНБ).	РАНБ 1 - кількість бластів в кістковому мозку від 5% до 9% РАНБ 2 - кількість бластів в кістковому мозку від 10% до 19%
Мієлодиспластичний синдром/мієлопроліферативний захворювання (МДС/МПЗ).	Дисплазія при наявності характеристик, зазвичай властивих мієлопроліферативний захворювання; включає ХММЛ
5q- (5q мінус) синдром.	Хворі, у яких відсутні хромосомні аномалії, за винятком делеції в довгому плечі 5-ї хромосоми
Некласифікований МДС.	Включає хворих із цитопенією в одному типі клітин крові, крім анемії (тобто з нейтропенією або тромбопенією) і будь-якими незвичайними характеристиками (наприклад, фіброзом кісткового мозку)

Рефрактерна анемія (РА) з однолінійною дисплазією. Хворі цієї категорії страждають анемією, яка не відповідає на лікування препаратами заліза або вітамінами, тобто є рефрактерною по відношенню до такого лікування. Анемія може супроводжуватися тромбоцитопенією і нейтропенією легкої чи середньої тяжкості.

Рефрактерна анемія з кільцевими сидеробластами (РАКС). У хворих з даними видом анемії відзначається дисплазія тільки в еритроїдному ряді. Сидеробласти – клітини еритроїдного ряду, що містять гранули заліза; кільцеві сидеробласти є аномальними. Рефрактерна анемія з кільцевими сидеробластами (РАКС) вважається найбільш доброякісним підтипом в системі класифікації ВООЗ.

Рефрактерна цитопенія з мультилінійною дисплазією (РЦМД). У цю категорію включаються хворі, які страждають на рефрактерну цитопенію (стійкою низькою кількістю клітин крові будь-якого типу, наприклад, рефрактерною нейтропенією або рефрактерною тромбоцитопенією) і що мають мінімальну дисплазію, щонайменше, у двох типах клітин крові, а також кількість бластів 5% і менше, або кількість кільцевих сидеробластів менше 15%. Якщо кількість кільцевих сидеробластів у хворого з РЦМД перевищує 15%, ставиться діагноз РСМД-КС.

Рефрактерна анемія з надлишком бластів (РАНБ). Ця категорія ділиться на дві підкатегорії, які різняться кількістю бластів в кістковому мозку. У хворих, які мають РАНБ-1, кількість бластів становить від 5% до 9%, а у хворих з РАНБ-2 – від 10% до 19%.

Мієлодиспластичний синдром/мієлопроліферативне захворювання (МДС/МПЗ). Хворі з МДС/МПЗ включають тих, хто страждає хронічним мієломоноцитарним лейкозом (ХММЛ), Котрий є окремою категорією в системі ФАБ-класифікації.

5q- (5q мінус) синдром. Синдром 5q-, в справжнє час що виділяється як окремий підтип МДС, вперше було описано понад 30 років тому. Назва цього синдрому пов'язана з хромосомною аномалією (делецією) довгому плече (q) хромосоми 5. Делеція в межах довгого плеча хромосоми 5 є єдиною хромосомний аномалією у хворих МДС з діагнозом «синдром 5q-». Зазвичай цей синдром спостерігається у жінок середнього віку, як правило, у віці 65 років і супроводжується анемією легкої або середньої тяжкості, низьким кількістю лейкоцитів (лейкопенія) і часто нормальним або підвищеним кількістю тромбоцитів. Синдром 5q-характеризується сприятливим прогнозом, тривалістю життя більше п'яти років з часу постановки діагнозу.

Некласифікований МДС. Дана категорія включає хворих з цитопенією в одному типі клітин крові (наприклад, тромбопенією або нейтропенією) і будь-якими незвичайними характеристиками (наприклад, фіброзом кісткового мозку). Цей синдром зустрічається відносно рідко. не більше 1% -

2% всіх випадків МДС.

Мієлопроліферативні захворювання.

Класифікація мієлопроліферативних захворювань

Хронічні мієлопроліферативні захворювання - клональні пухлини, розвиваються з стоволовий кровотворної клітини, що характеризуються проліферацією в кістковому мозку одного або більше паростків мієлоїдній лінії (гранулоцитарного, еритроїдного, мегакаріоцитарного). Проліферація клітин супроводжується щодо нормальним дозріванням (ефективним гемопоезом), що наводить до підвищення числа гранулоцитів, еритроцитів та/або тромбоцитів в периферичній крові. Найчастіше уражаються печінка та селезінка, де відзначаються екстрamedулярні осередки кровотворення, лейкозна інфільтрація та руйнування пухлинних клітин. До мієлопроліферативних захворювань відносять:

- хронічний мієлолейкоз;
- сублейкемічний мієлоз (остеомієлосклероз);
- еритремія (справжня поліцитемія);
- хронічний мієломоноцитарний лейкоз;
- хронічний мегакаріоцитарний лейкоз (есенційна тромбоцитемія).

Хронічний мієлолейкоз. Хронічний мієлолейкоз (ХМЛ) складає 15-20% всіх випадків мієлопроліферативних захворювань. Зустрічається у будь-якому віці, частіше в осіб середнього та похилого віку. Захворювання пов'язано з пухлинний трансформацією поліпотентної гемопоетичної стовбурової клітини. Маркером пухлинного клону при ХМЛ є філадельфійська хромосома (Ph-хромосома), яка утворюється в наслідок набутої транслокації t(9;22) (q 34;q 11). При утворенні Ph-хромосоми відбувається перенесення генетичного матеріалу хромосоми 9 на 22, що призводить до утворення химерного гена BCR/ABL. Продукт цього гена - онкобілок p210 - є тирозинкіназою з підвищеною активністю. Він грає ведучу роль в патогенезі ХМЛ, наводячи до неконтрольованою проліферації, пригнічення апоптоза, порушення диференціювання гемопоетичних клітин і

розвитку лейкозного клону. Поява BCR/ABL тирозинкінази у гемопоетичних попередниках наводить до порушення нормального функціонування клітини і її злоякісної трансформації. З часом клітини, містять патологічний білок p210, витісняють нормальні стовбурові, у хворого розвивається картина ХМЛ. Аномальна хромосома виявляється во всіх клітинах мієлопоезу, а також Т- та В-лімфоцитах, тому все потомство – гранулоцити, моноцити, еритрокаріоцити, мегакаріоцити та лімфоцити – належить до пухлинного клону. До 95% випадків ХМЛ – Rh-позитивні, лише 5-8% спостережень реєструються як Rh-негативні. Діагноз ХМЛ остаточно може бути верифікований за допомогою цитогенетичного або молекулярно-генетичного методів дослідження і виявлення Rh- хромосоми або BCR/ABL-транскрипт.

Завдяки успішному використанню інгібіторів тирозинкіназ в лікуванні ХМЛ, здібних елімінувати клони клітин, несучих Rh- хромосому, досягнуто суттєві успіхи в збільшенні тривалості життя хворих. Однак повністю знищити родоначальні Rh-позитивні клітини поки що не вдається. В даний час необхідним є використання сучасних методів для оцінки мінімальної залишковою хвороби. Одним з них є метод флюоресцентної гібридизації *in situ* (FISH), який може бути застосований як до діляться, так і клітин, що не діляться, характерним для мінімальної Залишкової хвороби. Цитогенетична відповідь визначається за змістом Rh⁺-клітин у пунктаті кісткового мозку: повний – 0%, частковий – 1-35%, малий - 36-65%, мінімальний - 66-95%, ні відповіді - більше 95%. Молекулярний відповідь оцінюється на підставі визначення кількості BCR/ABL-транскрипта в периферичній крові з допомогою методу кількісної ПЛР у реальному часі (RQ-PCR). Повним молекулярним відповіддю вважають випадки, коли BCR/ABL-транскрипт виявити не вдається.

Сублейкемічний мієлоз. Сублейкемічний мієлоз – хронічний клональне мієлопроліферативне захворювання, виникає внаслідок трансформації клітин-попередниць мієлопоезу. У 50% хворих виявляється мутація JAK2V617F. Неспецифічні хромосомні аномалії зустрічаються у 30-40%

пацієнтів, що найбільш часто свідчить про несприятливий прогноз. Захворювання характеризується пухлинний проліферацією переважно мегакаріоцитів і гранулоцитів в кістковому мозку, розвитком фіброза і екстрамедулярного кровотворення. Домінуючим ознакою сублейкемічного мієлоза є розвиток фіброза в кістковому мозку, Котрий служить неспецифічною реакцією стромальних клітин кісткового мозку на цитокіни, секретовані пухлинним клоном і клітинами стромального мікрооточення. Посилення проліферації фібробластів і остеобластів внаслідок впливу факторів росту, секретованих мегакаріоцитами та тромбоцитами (TGF - β , PDGF, b-FGF), призводить до розвитку мієлофіброзу та остеомієлосклерозу.

Прогресування захворювання супроводжується збільшенням кількості лейкоцитів, розмірів селезінки, наростання анемії. Розвиток анемії є наслідком недостатності кістковомозкового кровотворення. Тромбоцитопенія призводить до геморагічного синдрому, Котрий проявляється кровотечами, частіше в шлунково-кишковому тракті.

У периферичній крові частіше буває невеликий лейкоцитоз ($10,0-20,0 \times 10^9/\text{л}$). У лейкоцитарній формулі спостерігається зрушення до мієлоцитів, анізоцитоз нейтрофілів, асинхронне дозрівання ядра і цитоплазми, порушення гранулогенезу в нейтрофілах, гіпо- і гіперсегментовані нейтрофіли. У більшості хворих є нормохромна анемія. У мазках крові має місце анізоцитоз, пойкилоцитоз з переважанням краплеподібних еритроцитів (дакріоцити), нормобласти, низький ретикулоцитоз, атипові великі тромбоцити. У відмінність від ХМЛ активність лужний фосфатази в нейтрофілах різко збільшено.

Кістковий мозок гіперклітинний з підвищеним вмістом незрілих клітин гранулоцитарного ряду, атипових мегакаріоцитів. Зміст еритрокаріоцитів може бути в межах норми або незначно знижено. Еволюція сублейкемічного мієлоза характеризується поступовим наростанням лейкоцитоз, може розвинутих вторинний гострий лейкоз, резистентний до лікування. Розвиток лейкоза спостерігається як в випадках з лейкоцитоз, так і

лейкопенією. Виявлення в крові та/або кістковому мозку від 10-19% бластів свідчить про перехід захворювання на прогресуючу фазу, більше 20% - про трансформацію в бластний криз по типу ГМЛ, ГММЛ, гострого мегакаріобластного лейкозу.

Еритремія (справжня поліцитемія). Еритремія - клональне мієлопроліферативне захворювання, що характеризується підвищеною продукцією клітин еритроїдного ряду в поєднанні з надлишковою проліферацією клітин грануло- та мегакаріоцитопоезу. Основою патогенезу еритремія є пухлинна трансформація клітини-попередниці мієлопоезу. Мутація (JAK2V617F), ген якої розташований на хромосомі 9, наводить до посилення функцій тирозинкінази JAK2 за рахунок зв'язування внутрішньоклітинного та поверхневого домену еритропоєтинового рецептора, що супроводжується проліферацією еритроїдних попередників незалежно від зовнішньої стимуляції ЕПО. Результатом надлишкової проліферації клітин-попередниць мієлопоеза є стимуляція еритроцитоз та тромбоцитозу і розвиток еритремії.

Захворювання зустрічається переважно у літніх людей, характеризується щодо доброякісним перебігом і більшою виживанням в відмінність від інших мієлопроліферативних захворювань.

У периферичній крові еритроцити мають нормальну морфологію, в випадку розвитку дефіциту заліза внаслідок крововтрат з'являється гіпохромія і Мікроцитоз. Найбільш часто в лейкоцитарній формулі зустрічається нейтрофілоз і базофілія, рідше незрілі гранулоцити. Відзначається висока активність ЛФ в нейтрофілах. Тромбоцитоз має місце у 50% хворих. Характерно також зниження ШОЕ (до 0-1 мм/год) та збільшення в'язкості крові на пізніх стадіях розвитку захворювання знижується продукція еритроцитів, наростає спленомегалія. Кістковий мозок має низьку клітинність, фіброз виражений, відзначаються скупчення мегакаріоцитів. Кількість клітин гранулоцитарного і еритроїдного ряду знижується, може зустрічатися остеосклероз. У периферичній крові простежується тенденція до

зменшення кількості еритроцитів і гемоглобіну до нормальних показників, розвитку нормо- або гіперхромний анемії з вираженим анізоцитоз.

Хронічний мегакаріоцитарний лейкоз. Хронічний мегакаріоцитарний лейкоз - клональне мієлопроліферативне захворювання, що характеризується проліферацією мегакаріоцитів і персистуючим тромбоцитоз. Ведучим гематологічним симптомом є гіпертромбоцитоз та гіперплазія мегакаріоцитів у кістковому мозку. Клінічна картина характеризується невеликою спленомегалією, яка прогресує по мірі розвитку хвороби, рідше гепатомегалією, повільно наростаючою анемією. Характерні розлади мікроциркуляції, тромбози артеріальних та венозних судин. Геморагічні ускладнення зустрічаються у хворих із значним тромбоцитозом – понад $1500 \times 10^9 / \text{л}$. У периферичній крові спостерігається гіпертромбоцитоз ($500\text{-}1500 \times 10^9 / \text{л}$ і більше), фрагменти ядер мегакаріоцитів, помірно виражена анемія, помірний лейкоцитоз з лівим зрушенням у лейкоцитарній формулі, може спостерігатися базофілія і еозинофілія. Морфологія тромбоцитів характеризується анізоцитоз, збільшенням MPV і PDW, появою гігантських і потворних форм з псевдоподіями, гіпогранулярних тромбоцитів, фрагментів ядер мегакаріоцитів.

Кістковий мозок нормо- або гіперклітинний, з триростковою гіперплазією, скороченням маси жирової тканини. Відзначається значна гіперплазія мегакаріоцитарного паростка. Мегакаріоцити розташовуються в мазках кісткового мозку по поодинокі або скупченнями. Характерна морфологічна гетерогенність клітин мегакаріоцитарного паростка - гігантські мегакаріоцити з багатолопатовими множинними ядрами без ознак атипії, можливі мікроформи мегакаріоцитів. При хронічному мегакаріоцитарному лейкозі часто спостерігається явище емпіріополізісу (феномен поглинання клітин). за мірі прогресування захворювання може розвиватися фіброз кісткового мозку.

Лімфопроліферативні захворювання.

Класифікація лімфопроліферативних захворювань.

Лімфопроліферативні захворювання по місцю первинного виникнення поділяються на дві великі групи: хронічні лімфоїдні лейкози і злоякісні неходжкінські лімфоми, які спочатку мають позакістномозкову локалізацію (лімфатичні вузли, селезінка, шкіра, лімфоїдна тканина слизової шлунка і ін), що відрізняє їх від лейкозів. Зріст пухлини може супроводжуватися інфільтрацією кісткового мозку і лейкемізацією. У відповідно з критеріями, запропонованими ВООЗ, при верифікації діагнозу є обов'язковим встановлення лінійної приналежності пухлинних лімфоїдних клітин (Т- або В-) та ступеня їх диференціювання (попередниці або зрілі клітини) (табл. 22).

Таблиця 22

Класифікація лімфоїдних пухлин (ВООЗ, 2008 р.)

В-клітинні пухлини	Т- і НК-клітинні пухлини
<ul style="list-style-type: none">• З попередників В-клітин :<ul style="list-style-type: none">○ В-лімфобластна лейкоз/лімфома○ В-лімфобластна лейкоз/лімфома з повторюваними генетичними аномаліями• В-клітинні пухлини зі зрілих (периферичних) клітин:<ul style="list-style-type: none">○ Хронічний лімфолейкоз/лімфома з малих лімфоцитів○ Пролімфоцитарний лейкоз○ Лімфоплазмоцитарна лімфома○ Лімфома з клітин мантиї○ Фолікулярна лімфома○ Первинна шкірна лімфома фолікулярного центру○ Лімфома маргінальної зони селезінки○ Волосатоклітинний лейкоз○ Лімфома/лейкоз селезінки, некласифікована○ Хвороба важких ланцюгів○ Плазмоклітинні пухлини○ Екстранодальна лімфома маргінальної зони MALT-типу (MALT-лімфома)○ Нодальна лімфома маргінальної зони○ Дифузна великоклітинна В-клітинна лімфома○ Первинна дифузна великоклітинна В-клітинна лімфома (ДКВКЛ) ЦНС○ Первинна шкірна ДКВКЛ○ ВЕБ позитивна ДКВКЛ літніх	<ul style="list-style-type: none">• З попередників Т-клітин:<ul style="list-style-type: none">○ Т-лімфобластна лімфома/лейкоз із клітин попередників○ Бласна НК-клітинна лімфома• Т-клітинні лімфоми з зрілих (периферичних) клітин:<ul style="list-style-type: none">○ Т-клітинний пролімфоцитарний лейкоз○ Т-клітинний лейкоз з БГЛ○ Хронічне ЛПЗ із НК- клітин○ Агресивний НК-клітинний лейкоз○ Т-клітинна лімфома/лейкоз дорослих (НTLV 1+)○ Екстранодальна НК/Т-клітинна лімфома, назальний тип○ ВЕБ-Т-ЛПЗ у дітей○ Т-клітинна лімфома, асоційована з ентеропатією○ Гепатолієнальна Т-клітинна лімфома○ Т-клітинна панікулітоподібна лімфома підшкірний клітковини○ Ангіоімунобластна Т- клітинна лімфома○ Анапластична великоклітинна лімфома○ Грибоподібний мікоз/синдром

<ul style="list-style-type: none"> ○ ДКВКЛ, асоційована з хронічним запаленням ○ Т-клітинна/багата гістіоцитами великоклітинна В-лімфома ○ Медіастиальна великоклітинна В-клітинна лімфома ○ Внутрішньосудинна великоклітинна В-клітинна лімфома ○ АЛК-позитивна великоклітинна В-клітинна лімфома ○ Плазмобластна лімфома ○ Крупноклітинна В-клітинна лімфома з хвороби Кастельмана, асоційованою з HHV 8 ○ Первинна лімфома серозних порожнин ○ Лімфома Беркітта ○ Лімфоматоїдний гранулематоз 	<p>Сезарі</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ Первинні шкірні CD 30- позитивні Т-ЛПЗ ○ Первинна Т-клітинна лімфома NOS ○ Анапластична великоклітинна лімфома АЛК-позитивна ○ Анапластична великоклітинна лімфома АЛК-негативна
--	---

Діагностика лімфопроліферативних захворювань включає:

- виявлення морфологічного субстрату пухлини;
- визначення імунофенотипа пухлинних клітин (імуногістохімія, проточна цитофлюориметрія);
- встановлення ступеня поширеності пухлини (стадії захворювання);
- виявлення молекулярно-генетичних змін.

Лімфоїдні пухлини з клітин-попередників В- лімфобластний лейкоз з клітин-попередників/лімфобластна лімфома - пухлини, морфологічним субстратом яких є лімфобласти. Діагностика лімфом з клітин-попередників повинна здійснюватися тільки з обліком даних імунофенотипування. Непухлинний аналог знаходиться в кістковому мозку на антигеннезалежній стадії диференціювання.

Захворювання зустрічається у дорослих щодо рідко (біля 10%), однак у дітей складає до 40% всіх випадків НХЛ. Характерно агресивний перебіг із залученням у процес центральної нервової системи, лімфатичних вузлів, печінки, селезінки, яєчок, шкіри, м'яких тканин. У периферичній крові відзначається анемія та/або тромбоцитопенія та/або нейтропенія. Кількість лейкоцитів може бути нормальною, зниженою або підвищеним. У кістковому мозку або інших тканинах має місце дифузний характер пухлинного

зростання.

Цитохімія: лімфобласти не містять МПО, ліпіди; PAS- позитивна речовина розподіляється у вигляді дрібних, пілоподібних гранул по периферії цитоплазми або навколо ядра, може локалізуватись блоками або декількома великими гранулами в невеликому відсотку клітин. У лімфобластах відзначається активність кислої фосфатази (КФ) різного ступеня виразності.

Імунофенотип: лімфобласти експресують TdT (термінальна дезоксинуклеотидилтрансфераза - маркер ранніх клітин- попередників), HLA-DR, CD19, цитоплазматичний CD79a.

T-лімфобластний лейкоз з клітин-попередників / лімфобластна лімфома (Т-ГЛЛ) – пухлини, морфологічний субстрат яких є лімфобласти. Непухлинні аналоги знаходяться в тимусі на антигеннезалежній стадії диференціювання. Т-ГЛЛ складає 15% від всіх дитячих гострих лімфобластних лейкозів. Особливістю клінічної картини є часте залучення в пухлинний процес середостіння, серозних оболонок, поява випоту в перетворювальній порожнині. Інші місця локалізації пухлини - шкіра, лімфатичні вузли, печінка, селезінка, лімфатичне кільце Вальдейера, центральна нервова система, яєчка. Т- ГЛЛ часто супроводжується гіперлейкоцитоз і великий пухлинний масою.

Імунофенотип: лімфобласти експресують TdT, CD1a, CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8. Може спостерігатися коекспресія CD4 і CD8, експресія CD10. У залежності від того, на якій стадії диференціювання в тимусі відбулася онкогенна трансформація, лімфобласти можуть мати ті чи інші антигени (на ранній стадії - цитоплазматичний CD3, CD2, CD7, трохи пізніше – CD1a, CD5 (кортикальні тимоцити), на останній стадії - Мембранний CD3).

В-клітинні пухлини з зрілих (периферичних) клітин. В- клітинний хронічний лімфолейкоз/лімфома з малих лімфоцитів - пухлина лімфоїдної тканини, що характеризується ураженням кісткового мозку і лімфатичних вузлів (ЛУ). У більшості випадків пухлинна трансформація відбувається на

рівні наївних або "незайманих" (CD19+CD5+CD23+IgM+IgD+) (прегермінальних) В-лімфоцитів з наступним блоком у їх подальшому диференціювання та проліферацією клону пухлинних клітин. Не менш часто зустрічається В-ХЛЛ з пухлинною трансформацією постгермінальних В-лімфоцитів (клітин пам'яті), про чим свідчать виявлені соматичні гіпермутації генів варіабельного регіону імуноглобулінів. В-ХЛЛ - захворювання з порушеним процесом апоптозу. Більшість пухлинних В-лімфоцитів є лежачими. Більше 99% циркулюючих лімфоцитів знаходиться в G0-фазі клітинного циклу. Цитокіни, секретовані оухолевыми клітинами (ІЛ-8, TNF- α), а також ІЛ-2, продукований Т-лімфоцитами, сприяють проліферації та виживання клітин ХЛЛ.

Діагностичні критерії В-ХЛЛ:

- абсолютний лімфоцитоз в периферичній крові більше 5000 в 1 мкл;
- пролімфоцити <10%;
- лімфоцитоз в кістковому мозку >30%;
- імунологічний фенотип - CD19+CD23+CD5+.

В-клітинна клональність встановлюється виявленням рестрикції легень ланцюгів поверхневих імуноглобулінів (κ або λ).

Картина периферичної крові при ХЛЛ зазвичай представлена нормальним або незначно підвищеним кількістю лейкоцитів. Анемія і тромбоцитопенія, як правило, відсутні. Основним гематологічним показником при ХЛЛ є абсолютний Лімфоцитоз. У лейкоцитарній формулі відсоток морфологічно зрілих лімфоцитів складає від 45 до 95%, зустрічаються одиничні пролімфоцити, має місце відносна або абсолютна нейтропенія. Лімфоцити периферичної крові при ХЛЛ характеризуються невеликими розмірами (7-10 мкм), округлим ядром, глибоким розподілом хроматину, відсутністю нуклеол, вузькою цитоплазмою базofilного кольору.

По мірі прогресування пухлинного процесу наростає лейкоцитоз,

відносний і абсолютний лімфоцитоз, нейтропенія, спостерігається нормохромна анемія та/або тромбоцитопенія. У лейкоцитарній формулі пролімфоцити складають менше 10%. У том випадку, якщо відсоток пролімфоцитів складає 11-55%, встановлюється діагноз «ХЛЛ/пролімфоцитарний лейкоз», який характеризується більш агресивним течією. При ХЛЛ може спостерігатися аутоімуна гемолітична анемія, рідше тромбоцитопенія за рахунок утворення аутоантитіл до еритроцитів або еритрокаріоцитів, тромбоцитів.

Імунофенотип: пухлинні клітини експресують В-клітинні антигени – CD19, CD20 (слабка), CD22 (слабка), CD79а, CD23, CD43, CD5, відзначається слабка експресія поверхневих імуноглобулінів класу IgM або IgM+IgD (у ряді випадків не виявляється), з рестрикцією легень

ланцюгів (κ або λ), варіабельно представлені активаційні антигени CD38, CD25, CD71. Експресія CD38 на більше 20% CD19+CD5+ клітинах асоціюється з поганим прогнозом.

Цитогенетика: приблизно в 1/3 випадків виявляється додаткова хромосома 12 (трисомія 12), що зв'язується з більш агресивним клінічним перебігом захворювання. У 25% хворих визначаються структурні порушення в хромосомі 13. Середня тривалість життя хворих складає 7 років.

Волосатоклітинний лейкоз. Захворювання складає 2% від всіх лімфоїдних лейкозів, зустрічається в віці від 26 до 75 років, частіше у чоловіків. Кістковий мозок нормо- або гіперклітинний з дифузний лімфоїдною інфільтрацією, часто розвивається фіброз, відсоток «волосатих» клітин значно варіює (8-60%). У периферичній крові панцитопенія або дворосткова цитопенія (лейкопенія, анемія та/або тромбоцитопенія) або сублейкемічний лейкоцитоз. У лейкограмі абсолютний лімфоцитоз, нейтропенія (Агранулоцитоз), моноцитопенію. Серед лімфоцитів виявляють «волосаті» клітини, відсоток яких становить від 2 до 90% та більше. Це клітини середнього розміру з округлим, овальним, ниркоподібним ядром,

гомогенної, згладженою структурою хроматину, нуклеоли, як правило, відсутні або невиразні, цитоплазма рясна світло-блакитна, з відростками. Іноді в цитоплазмі можуть виявлятися вакуолі. «Волосаті» клітини характеризуються дифузною-гранулярної реакцією на кислу фосфатазу, не пригнічувану тартратом натрію.

Імунофенотип: пухлинні клітини експресують В-клітинні антигени - CD19, CD20, CD22, sIg⁺ (M^{+/-}D, G, або a), CD79a, CD11c, CD25, CD103. Клітини не мають на мембрані CD5, CD10, CD23.

Мієломна хвороба (МБ) - В-клітинне лімфопроліферативне захворювання, що характеризується клональної проліферацією в кістковому мозку, рідше в екстремедулярних вогнищах плазматичних клітин, синтезуючих моноклональний імуноглобулін (IgG, IgA, IgD, IgE) та/або

легкі ланцюги (κ, λ). Захворювання діагностується віком 40-70 років. Серед етіологічних факторів виділяють вірус герпесу 8 типу. У патогенезі захворювання велику роль надають активуючому дії деяких цитокінів, в зокрема ІЛ-6, Котрий підтримує проліферацію плазматичних клітин і запобігає їх апоптоз. Виживання і зріст пухлинних клітин во багато в чому залежить від стромального мікрооточення кісткового мозку. Адгезія мієломних клітин до позаклітинному матрикс кісткового мозку з допомогою адгезивних молекул (CD44, VLA-4, VLA-5, CD11a, CD56, CD54 (ICAM-1), CD138, MPC-1) локалізує пухлинні клітини у кістковомозковому мікрооточенні. Перебуваючи у тісному фізичному контакті зі стромальний мікрооточенням кісткового мозку, мієломні клітини секретують цитокіни (TNF- α , TGF- β , VEGF), які в надалі стимулюють секрецію ІЛ-6 стромальних клітин кісткового мозку, сприяючи остеолізісу.

Імунофенотип: пухлинні плазматичні клітини експресують моноклональний цитоплазматичний імуноглобулін (частіше IgG, рідше IgA, IgD, IgE , IgM). Пан-В-клітинні антигени (CD19, CD20) відсутні, відзначається експресія CD38, CD138, CD56/58.

У кістковому мозку при МБ відзначається плазмоклітинна інфільтрація

різної ступеня виразності, що характеризується анізоцитозом як клітин, так і їх ядер, анаплазією і різний ступенем зрілості (від плазмобластів, проплазмоцитів до зрілих плазматичних клітин) Важливим діагностичним ознакою МБ є виявлення моноклонального імуноглобуліну в сироватці крові та/або сечі, виявляється у 99% хворих. У більшості хворих спостерігається зниження рівнів нормальних імуноглобулінів більш ніж на 50%, рідко – нормальні їх значення. Моноклональний IgG зустрічається у 50%, IgA – приблизно у 20%, моноклональні легкі ланцюги (білок Бенс-Джонса) – у 15%, IgD – у 2%, біклональна гаммапатія - у 2% хворих. Протеїнурія Бенс-Джонса виявляється у 75% хворих.

Макроглобулінемія Вальденстрема

Макроглобулінемія Вальденстрема (МВ) - В-клітинна пухлина, морфологічно представлена лімфоцитами, зрілими плазматичними клітинами і перехідними формами клітин, секретуючими моноклональний IgM. Пухлинна трансформація відбувається на рівні постгермінальних В-лімфоцитів. Макроглобулінемія Вальденстрема складає 1,5% всіх випадків В-клітинних лімф. Хворіють переважно чоловіки старше 60 років. Клінічні прояви МВ обумовлені проліферацією лімфоцитів в кістковому мозку, печінки, селезінці, лімфатичних вузлах і накопиченням в сироватці моноклонального IgM (>30 г/л). Синдром підвищеною в'язкості крові, коагулопатії, криоглобулінемія, нейропатії - найбільш часті клінічні прояви МВ. У кістковому мозку відзначається проліферація лімфоцитів, іноді з плазматизованою цитоплазмою, збільшення плазматичних клітин (до 15-20%), опасистих клітин. Картина периферичної крові характеризується анемією, нерідко спостерігається лейкопенія з нейтропенією, але частіше кількість лейкоцитів нормальне, може спостерігатиметься моноцитоз. У міру прогресування захворювання розвивається тромбоцитопенія. ШОЕ завжди різко збільшено. У сироватці крові відзначається гіперпротеїнемія, а на електрофорезі – М-градієнт класу IgM, в сечі – білок Бенс-Джонс.

Імунофенотип: пухлинні клітини експресують поверхневі та

цитоплазматичні імуноглобуліни, зазвичай IgM, В-клітинні антигени (CD19, CD20, CD22, CD79a), CD38. Клітини не експресують CD23, CD5, CD10, CD43 (+/-).

Цитогенетика: в 50% випадків має місце транслокація t(9;14), порушення складання генів важких або легких ланцюгів Ig.

T-клітинні пухлини з зрілих (периферичних) T-клітин. Це гетерогенна група пухлин, представлених T-лімфоцитами з «зрілим» посттимічним імунологічним фенотипом. Біля 15% злоякісних лімфом мають T-клітинне походження.

T-клітинний пролімфоцитарний лейкоз - рідко зустрічається захворювання, що реєструється у віці старше 70 років, має агресивне течія. У клінічній картині спостерігається генералізована лімфаденопатія, шкірні поразки в вигляді еритематозних, папульозних висипань, гепатоспленомегалія. У кістковому мозку відзначається дифузна лімфоїдна інфільтрація з переважанням пролімфоцитів. У периферичній крові - анемія, гіперлейкоцитоз з підвищеним кількістю пролімфоцитів. Іноді дрібні клітини і нуклеоли в ядрі не помітні (дрібноклітинний варіант). У ряді випадків T-клітинного варіанта пролімфоцитарного лейкозу має місце поліморфізм ядер пролімфоцитів (покручені, скручені, розщеплені, мозкоподібні).

Імунофенотип: пухлинні клітини експресують CD2+, CD3+, CD5+, CD7+, CD4+, CD8-/+.

Цитогенетика: при T-пролімфоцитарному лейкозі спостерігаються аномалії хромосоми 14, транслокація t(14;14).

T-клітинний лейкоз з великих гранулярних лімфоцитів - характеризується тривалим лімфоцитозом (Понад 6 місяців) без чітко встановленою причини. T-клітинний лейкоз з великих гранулярних лімфоцитів складає 2-3% від всіх спостережень ХЛЛ. Характеризується доброякісним перебігом процесу. Клінічній картині захворювання властиві рецидивні бактеріальні інфекції, симптоми ревматоїдного артриту, збільшення розмірів селезінки, поліклональна гіпергамаглобулінемія,

цитопенія (нейтропенія, анемія), абсолютний Лімфоцитоз. Великі гранулярні лімфоцити мають діаметр 12-15 мкм, ядро округлої або злегка овальної форми, розташовано кілька ексцентрично, хроматин конденсований, ядерця не візуалізуються. Цитоплазма широка, світла або слабобазофільна з ніжними або щільними азурофільними гранулами різного розміру і кількості. Імунофенотип: у 80% випадків має місце CD3+, CD4-, CD8+, TCR $\alpha\beta$ +. Рідкісні варіанти:

- CD3+, TCR $\alpha\beta$ +, CD4+, CD8-; CD3+, TCR $\alpha\beta$ +, CD4+, CD8+;
- CD3+, TCR $\gamma\delta$ +, CD4 і CD8 експресія невиразна;
- експресія CD11b, CD56, CD57 значно варіює.

Агресивний НК-клітинний лейкоз. Лейкоз з натуральних Т-кілерів характеризується клональної проліферацією НК-клітин, агресивним клінічним течією. Захворювання реєструється частіше в країнах Азії у осіб молодого віку. Розвивається лихоманка, гепатоспленомегалія, поразка шлунково-кишкового тракту, лімфаденопатія. Захворювання може ускладнюватися коагулопатії, гемофагоцитарним синдромом, поліорганної недостатністю. У патогенезі лейкозу з натуральних Т-кілерів грає роль вірус Епштейна- Бар. У кістковому мозку спостерігається масивна інфільтрація пухлинними НК-клітинами, мають морфологію великих гранулярних лімфоцитів. Можуть зустрічатися реактивні гістіоцити із явищем гемофагоцитозу. У периферичної крові анемія, лейкоцитоз з абсолютним лімфоцитозом рахунок великих гранулярних лімфоцитів.

Імунофенотип: пухлинні клітини експресують CD2+CD16+CD56+, відсутня CD3.

КОНТРОЛЬНІ МАТЕРІАЛИ

Контрольні питання:

1. Які напрямки виділяють в сучасній схемі кровотворення?
2. Якими властивостями володіють ствольні клітини крові?
3. У чому полягають відмінності дозріваючих і зрілих клітин крові?
4. Яку роль виконує основна речовина сполучної тканини в регуляції кровотворення?
5. Які клітини білої крові відносять до гранулоцитів та агранулоцитів, їх морфологічні особливості?
6. Що таке «тромбоцитограма», які функції тромбоцитів?
7. Які основні функціональні особливості клітин лейкоцитарного ряду?
8. Які кінетика, цитохімічні маркери, функції і ознаки активації нейтрофільних, еозинофільних і базофільних гранулоцитів?
9. Які дозріваючі та зрілі клітини грануломоноцитарного та лімфоїдних рядів виявляються в периферичній крові?
10. Які вікові особливості складу периферичної крові здорової людини?
11. Які сучасні технології аналізу використовуються в імуногематології?
12. Які етапи включає технологія гематологічних досліджень?
13. Які методи фіксації і забарвлення мазків крові використовують для підрахунку лейкоцитарний формули?
14. У чому полягають особливості приготування, фіксації і забарвлення препаратів для підрахунку ретикулоцитів?
15. У чому полягає принцип методу визначення фракцій гемоглобіну? Які фракції гемоглобіну виділяють?
16. Еритроцити яких розмірів відносять до нормо-, мікро-, макро- і мегалоцитів?
17. У чому полягає методика підрахунку ретикулоцитів в мазку крові?
18. Які морфологічні форми ретикулоцитів за ступенем зрілості ідентифікуються при мікроскопії пофарбованих мазків та на аналізаторі?
19. У чому принципові відмінності методів Панченкова та Вестергрена

для визначення ШОЕ?

20. Які існують методи визначення осмотичної резистентності еритроцитів?

21. У чому полягає методика визначення абсолютної кількості окремих морфологічних форм лейкоцитів крові?

22. Яка методика підрахунку мієлокаріоцитів в рахунковій камері Горяєва і в лічильній камері Фукса-Розенталя?

23. Що таке мієлограма, які індекси кісткового мозку використовують в гематології?

24. Які еритроцитарні параметри визначаються гематологічними аналізаторами?

25. Які причини хибного завищення (зниження) при визначенні кількості тромбоцитів крові на гематологічних аналізаторах?

26. За якими показниками можливо визначити наявність аглютинатів в зразку крові?

27. Які особливості підрахунку лейкоцитарної формули на різних типах гематологічних аналізаторів?

28. Які методи лежать в основі диференційованого підрахунку лейкоцитів на гематологічному аналізаторі?

29. Які методи можуть бути використані для диференціальної діагностики гострих лейкозів?

30. Які клітини і яку проявляють цитохімічну активність?

31. Які патогенетичні фактори лежать в основі розвитку спадкових/вроджених і набутих дефектів функції лейкоцитів?

32. Як класифікують лейкоцитози за змінами в лейкоцитарній формулі?

33. Які причини розвитку і лабораторні ознаки нейтрофілії, еозинофілії, базофілії, лімфоцитозу та моноцитозу?

34. Що таке лейкемоїдні реакції? Які критерії відмінностей лейкемоїдних реакцій та лейкозів?

35. Які причини розвитку і лабораторні ознаки лейкемоїдних реакцій

мієлоїдного типу?

36. Які причини розвитку і лабораторні ознаки лейкемоїдних реакцій лімфомоноцитарного типу?

37. Які диференціальні критерії діагностики нейтрофілів лейкемоїдних реакцій та хронічного мієлолейкозу?

38. Які етіологічні і патогенетичні фактори лежать в основі розвитку лейкопеній?

39. Які виділяють етапи діагностики лейкопеній?

ТЕСТИ

1. Гемопоетична стволова клітина характеризується:

- А. Поліпотентністю
- Б. Необмеженою проліферативною здатністю
- В. Обмеженою здатністю до диференціювання
- Г. Не здатна до самооновлення та самопідтримання
- Д. Стимулює проліферацію навколишніх клітин

2. Під визначенням "клонове" походження лейкозів розуміють:

- А. Придбання клітинами нових властивостей
- Б. Анаплазія лейкозних клітин
- В. Потомство мутованої клітини
- Г. Різноманітність морфології лейкозних клітин
- Д. Особливості фенотипу лейкозних клітин

3. Поділ анемії на гіпо- нормо- та гіперхромну засновано на значенні показника:

- А. RBC
- Б. MCV
- В. RDW
- Г. HGB
- Д. MCH

4. На клітинний анізоцитоз вказує підвищення:

- А. RBC

- Б. MCV
- В. RDW
- Г. HGB
- Д. MCH

5. Цитохімічні дослідження бластних клітин дозволяють встановити:

- А. Лінійну належність
- Б. Ступінь диференціювання бластних клітин
- В. Пухлинну природу
- Г. Чутливість до цитостатикам
- Д. Антигенну приналежність бластів

6. Середній Об'єм еритроциту збільшено при:

- А. Залізодефіцитної анемії
- Б. Таласемії
- В. Гемоглобінопатії
- Г. В12-дефіцитної анемії
- Д. Фолікулярної лімфоме

7. Підвищена кількість сидероцитів у периферичній крові та сидеробластів у кістковому мозку виявляється при:

- А. Прийом протитуберкульозних препаратів
- Б. Отруєння свинцем
- В. Залізодефіцитних анеміях
- Г. мієломної хвороби
- Д. Гемолітичної анемії

8. Причиною залізодефіцитної анемії може бути :

- А. Авітаміноз
- Б. Порушення синтезу порфіринів
- В. Дефіцит фолієвий кислоти
- Г. Порушення секреторної активності шлунка
- Д. Хронічні крововтрати

9. Збільшення вмісту бластів при клітинному або гіперклітинному кістковому мозку

характерно для:

- А. Фолієводефіцитної анемії
- Б. Гострої крововтрати
- В. Гострого лейкоза
- Г. Інфекційного мононуклеозу
- Д. Реактивного стану

10. Високий відсоток плазматичних клітин в кістковому мозку спостерігається при :

- А. Колагенозах
- Б. Інфекційний мононуклеоз
- В. Мієломної хвороби
- Г. Хвороби вальденстрему
- Д. Мегалобластний анемії

11. При гострому лейкозі найбільш характерним показником периферичної крові:

- А. Анемія, тромбоцитопенія, лейкоцитоз з присутністю бластних форм
- Б. Помірна анемія, тромбоцитоз, гіперлейкоцитоз з лівим зрушенням в лейкограмі

домієлоцитів

- В. Помірна анемія і тромбоцитопенія, лейкоцитоз з лімфоцитозом
- Г. Еритроцитоз, тромбоцитоз, невеликий лейкоцитоз з нейтрофілозом
- Д. Нормальна кількість еритроцитів та тромбоцитів, невелика лейкопенія без

зрушень в лейкограмі

12. Для гемограми при мієлофіброзе характерні :

- А. Еозинофілія
- Б. Відносний лімфоцитоз
- В. Моноцитоз
- Г. Прискорена шое
- Д. Анемія, помірний нейтрофілоз, тромбоцитоз

13. Лабораторна діагностика гострого лімфобластного лейкозу заснована на виявленні:

- А. Понад 20% бластних клітин у кістковому мозку
- Б. Позитивною реакції на мієлопероксидазу
- В. Позитивної реакції на лужну фосфатазу

Г. Позитивної реакції на ліпіди

Д. Цитоплазматичних та мембранних лімфоїдних антигенів за допомогою проточної цитометрії

14. Ph-хромосома (філадельфійська) характерна для:

А. Хронічного мієлолейкозу

Б. Хронічного лімфолейкозу

В. Мієломонобластного лейкозу

Г. Еритремія

Д. Аутоімунної тромбоцитопенії

15. Для гострого мієлобластного лейкозу найбільш характерним є цитохімічним показником є:

А. Мієлопероксидаза

Б. Pas-реакція гранулярної форми

В. Лужна фосфатаза

Г. Кисла фосфатаза

Д. Неспецифічна естераза

16. Для уточнення діагнозу «апластична анемія» необхідно провести додатково:

А. Оцінку метаболізму заліза

Б. Визначення вмісту вітаміну B-12 у сироватці крові

В. Визначення вільного гемоглобіну плазми

Г. Проведення стерильної пункції та трепанобіопсії

Д. Пряму реакцію кумбса

17. Для уточнення діагнозу «таласемія» додатково необхідно провести дослідження:

А. Електрофорез фракцій гемоглобіну

Б. Визначення вмісту вітаміну B-12 у сироватці крові

В. Визначення змісту фолатів в сироватці крові

Г. Визначення трансферину в сироватці крові

Д. Визначення гаптоглобіну

18. Для уточнення діагнозу «гострий лейкоз» необхідно провести додатково:

А. Визначення специфічних антигенів та антитіл

Б. Реакцію імунофлюоресценції (ріф)

В. Цитохімічні дослідження та імунофенотипування бластних клітин

Г. Визначення аутоантитіл до тромбоцитів

Д. Мієлограму, трепанобіопсію

Відповіді

1	2	3	4	5	6	7	8	9
А	В	Д	В	А	Г	Б	Д	В

10	11	12	13	14	15	16	17	18
В	А	Д	Д	А	А	Г	А	В

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

Основна:

1. Лаповець Л.Є., Лебедь Г.Б., Ястремська О.О. Клінічна лабораторна діагностика: підручник. – Київ: ВСВ «Медицина», 2019. – 472 с.: 32 кольор. вкл.
2. Клінічна лабораторна діагностика : навч. посіб. для студ. та інтернів вищ. мед. навч. закл. IV рівня акредитації / Б. Д. Луцик [та ін.] ; за ред.: Б. Д. Луцика. - 2-е вид. - Київ : Медицина, 2018. - 288 с.

Додаткова:

1. Залізодефіцитна анемія: навч.-метод. посіб. для студ. і слухачів системи післядиплом. навчання мед. ВНЗ III-IV рівнів акредитації. 2-ге вид., переробл. та доповн. / С.В. Видиборець, С.М. Гайдукова, О.І. Чернوبرова та ін. - Вінниця; Бориспіль: Меркьюрі-Поділля, 2012. - 237 с.
2. Лабораторна діагностика гемофілій та хвороби Віллебранда: навч. посіб. для студ. мед. ун-тів та лікарів - слухачів курсів установ післядиплом. освіти / Г.І. Мороз, В.В. Красівська, С.В. Видиборець, В.Л. Новак. - К.: НМАПО ім. П.Л. Шупика: ДУ «Ін-т патології крові та трансфуз. Медицини», 2012. - 75 с.
3. Луньова Г.Г., Ліпкан Г.М. Клінічна лабораторна діагностика порушень системи гемостазу. – Київ, 2011. – 280 с.
4. Мегалобластні анемії: монографія / С.В. Видиборець, С.М. Гайдукова, О.В. Сергієнко, О.І. Чернوبرова. — Вінниця; Бориспіль: Меркьюрі-Поділля, 2012. - 135 с.
5. Манастирська О. С. Клінічні лабораторні дослідження/ О. С. Манастирська. – Вінниця : Нова книга, 2007. - 168 с.
6. Свінціцький А.С., Гусєва С.А., Скрипниченко С.В., Родіонова І.О. Діагностика та лікування захворювань системи крові. – К.: Медкнига, 2010. – 148 (I) с.

7. Воробель А. В. Основи гематології : монографія / А. В.Воробель. – ІваноФранківськ : Вид-во —Плай|| ЦІТ Прикарпатського національного ун-ту ім. В. Стефаника, 2009. – 148 с.
8. Клінічна біохімія / Підручник / за заг. редакцією Г.Г. Луньової.- К.: Атіка, 2013. – 1156 с.
9. Клінічна лабораторна діагностика в 2-х частинах: Нормативне виробничопрактичне видання. – К.: МНІАЦ медичної статистики; МВЦ “Медінформ”, 2007.- 332 с.
10. Клінічна лабораторна діагностика: Навч. посібник / Луцик Б.Д., Лаповець Л.Є., Лыбидь Г.Б. та ін.; за ред. проф. Б.Д. Луцика. – К.: ВСВ «Медицина», 2011. – 288 с.
11. Анемії [електронний навчально-методичний посібник] / Т.Т. Федорова, Г.Г. Луньова, Є.О. Кривенко, О.А. Олійник, Л.І. Сергієнко, О.П. Завадецька. – 2017.
12. Залізодефіцитна анемія: навч.-метод. посіб. для студ. і слухачів системи післядиплом. навчання мед. ВНЗ III-IV рівнів акредитації. 2-ге вид., переробл. та доповн. / С.В. Видиборець, С.М. Гайдукова, О.І. Черноброва та ін. — Вінниця; Бориспіль: Меркьюрі-Поділля, 2012. — 237 с.
13. Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Salzman EW, editors. Hemostasis and thrombosis; basic principles and clinical practice, 5th ed. Philadelphia, PA: JB Lippincott Company, 2006.
14. Dacie JV, Lewis SM. Practical haematology, 11th ed. London: Churchill Livingstone, 2011.
15. Friedman RB, Young DS, editors. Effects of disease on clinical laboratory tests. Washington, DC: AACCC Press, 2001.
16. Harmening DM, editor. Clinical hematology and fundamentals of hemostasis, 5th ed. Philadelphia, PA: FA Davies Company, 2008.
17. Hoffbrand AV. Essential haematology / A. V. Hoffbrand, P.A.H. Moss, - 6th ed. Oxford: Wiley-Blackwell Scientific Publications, 2011.