



И.А. Новикова С.А. Ходулева

КЛИНИЧЕСКАЯ И ЛАБОРАТОРНАЯ ГЕМАТОЛОГИЯ

Для студентов учреждений
высшего образования

УДК 616.15-07/-08(075.8)
ББК 54.11я73
Н73

Рецензенты: кафедра факультетской терапии и кардиологии с курсом ФПК и ПК УО «Витебский орден Дружбы народов медицинский университет» заведующий кафедрой доктор медицинских наук, профессор *В.И. Козловский*; заведующий кафедрой клинической лабораторной диагностики и иммунологии УО «Гродненский государственный медицинский университет» доктор медицинских наук, доцент *С.В. Лелевич*

Новикова, И. А.

Н73 Клиническая и лабораторная гематология: учебное пособие / И. А. Новикова, С. А. Ходулева. — Минск: Вышэйшая школа, 2023. — 400 с. : [4] л. цв. вкл. : ил.

ISBN 978-985-06-3513-6.

Изложены современные аспекты гематологии, включая сведения об этапах кроветворения, морфологии и функциях клеток крови и костного мозга, новейших методах их оценки. Освещены вопросы этиологии и патогенеза, диагностики, лечения и контроля эффективности терапии заболеваний крови и системы гемостаза.

Для студентов учреждений высшего медицинского образования, преподавателей, практикующих врачей.

УДК 616.15-07/-08(075.8)
ББК 54.11я73

Учебное издание

**Новикова Ирина Александровна
Ходулева Светлана Александровна**

КЛИНИЧЕСКАЯ И ЛАБОРАТОРНАЯ ГЕМАТОЛОГИЯ

Учебное пособие

Редактор *О.И. Голденкова*. Художественный редактор *Т.Ю. Таран*. Компьютерная верстка *Н.В. Шабуня*. Корректор *О.И. Голденкова*.

Подписано в печать 16.05.2023. Формат 70×100/16. Бумага офсетная. Офсетная печать. Усл. печ. л. 32,5 + 0,65 (цв. вкл.). Уч.-изд. л. 30,0. Тираж 300 экз. Заказ 1908.

Республиканское унитарное предприятие «Издательство “Вышэйшая школа”». Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя, распространителя печатных изданий № 1/3 от 08.07.2013. Пр. Победителей, 11, 220004, Минск.
e-mail: market@vshph.com <http://vshph.com>

Открытое акционерное общество «Типография “Победа”». Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя, распространителя печатных изданий № 2/38 от 29.01.2014.
Ул. Тавлая, 11, 222310, Молодечно.

Все права на данное издание защищены. Воспроизведение всей книги или любой ее части не может быть осуществлено без разрешения издательства.

ISBN 978-985-06-3513-6

© Новикова И.А., Ходулева С.А., 2023
© Оформление. УП «Издательство
“Вышэйшая школа”», 2023

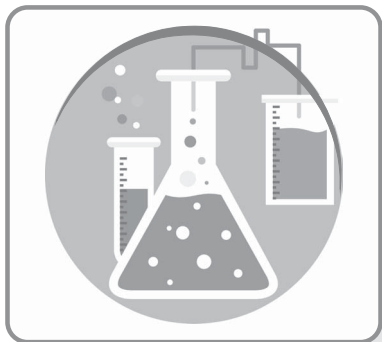
СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	3
ПРЕДИСЛОВИЕ	6
РАЗДЕЛ I. ЛАБОРАТОРНЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ В ГЕМАТОЛОГИИ	8
Глава 1. Костномозговое кроветворение	8
1.1. Клетки кроветворной ткани и их производные	9
1.2. Эритропоэз	11
1.3. Гранулоцитопоэз	15
1.4. Лимфоцитопоэз	19
1.5. Моноцитопоэз	24
1.6. Тромбоцитопоэз	24
Глава 2. Особенности морфологии и функции клеток крови и костного мозга	26
2.1. Эритроциты	27
2.2. Гранулоциты	28
2.3. Лимфоциты	33
2.4. Моноциты	35
2.5. Тромбоциты	36
Глава 3. Количественные изменения клеток крови	37
Глава 4. Методы лабораторного анализа системы крови	42
4.1. Преаналитический этап при проведении гематологических исследований	42
4.2. Автоматические методы анализа крови	47
4.3. Лабораторные методы оценки эритроидных клеток	51
4.3.1. Определение уровня гемоглобина	51
4.3.2. Подсчет количества эритроцитов	53
4.3.3. Гематокрит	54
4.3.4. Определение размеров эритроцитов	55
4.3.5. Индексы эритроцитов	56
4.3.6. Оценка морфологии эритроцитов	59
4.3.7. Подсчет количества ретикулоцитов	63
4.3.8. Ядросодержащие клетки эритроцитарного ряда	66
4.3.9. Резистентность эритроцитов	67
4.3.10. Скорость оседания эритроцитов	69

4.4. Лабораторные методы оценки лейкоцитов	70
4.4.1. Подсчет количества лейкоцитов в периферической крови	70
4.4.2. Подсчет лейкоцитарной формулы	71
4.4.3. Дегенеративные формы лейкоцитов	73
4.4.4. Наследственные аномалии морфологии лейкоцитов	74
4.5. Лабораторные методы оценки тромбоцитов	75
4.6. Контроль качества гематологических исследований	77
Глава 5. Исследование пунктата костного мозга	79
Глава 6. Цитохимические исследования клеток крови и костного мозга	87
Глава 7. Иммунофенотипирование в гематологической практике	93
Глава 8. Цитогенетические исследования в гематологии.	100
РАЗДЕЛ II. ПАТОЛОГИЯ СИСТЕМЫ КРОВИ.	103
Глава 9. Общая характеристика анемий.	103
9.1. Основные синдромы при анемиях.	104
9.2. Общие принципы диагностики анемий	106
Глава 10. Железодефицитная анемия	107
Глава 11. Анемия хронического заболевания	121
Глава 12. Сидероахрестические анемии	125
Глава 13. Гемолитические анемии	131
13.1. Наследственный сфероцитоз	136
13.2. Ферментопатии, дефицит глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы	143
13.3. Гемоглобинопатии	147
13.3.1. Талассемии	147
13.3.2. Серповидно-клеточная анемия	153
13.4. Пароксизмальная ночная гемоглобинурия	157
13.5. Иммунные гемолитические анемии	161
13.5.1. Аутоиммунная гемолитическая анемия	163
13.5.2. Лекарственные иммунные гемолитические анемии	172
Глава 14. Мегалобластные анемии	173
14.1. В ₁₂ -дефицитная анемия	174
14.2. Фолиеводефицитная анемия	180
14.3. Клиническая картина мегалобластных анемий.	184
14.4. Диагностика мегалобластных анемий.	186
14.5. Дифференциальная диагностика мегалобластных анемий	188
14.6. Лечение мегалобластных анемий.	190
Глава 15. Апластические анемии	191
15.1. Апластическая анемия Фанкони	197
15.2. Врожденный дискератоз	199
15.3. Анемия Швахмана — Даймонда — Оски	200

15.4. Анемия Даймонда — Блекфена	201
15.5. Ретикулярный дисгенез	202
Глава 16. Наследственные дизэритропоэтические анемии	202
Глава 17. Общая характеристика гемобластозов.	204
Глава 18. Острые лейкозы	209
Глава 19. Миелопролиферативные заболевания	222
19.1. Хронический миелолейкоз	223
19.2. Истинная полицитемия	230
19.3. Первичный миелофиброз	234
19.4. Эссенциальная тромбоцитемия	239
Глава 20. Миелодиспластические синдромы	242
Глава 21. Лимфопролиферативные заболевания	252
21.1. Хронический лимфолейкоз	252
21.2. Волосатоклеточный лейкоз.	260
21.3. Т-клеточный хронический лимфолейкоз.	262
21.4. Парпротеинемические гемобластозы	263
21.4.1. Множественная миелома	264
21.4.2. Макроглобулинемия Вальденстрема	276
21.5. Лимфома Ходжкина	279
Глава 22. Лейкемоидные реакции	288
Глава 23. Агранулоцитоз.	293
РАЗДЕЛ III. ГЕМОСТАЗ И ЕГО НАРУШЕНИЯ.	299
Глава 24. Основные компоненты системы гемостаза	299
24.1. Свертывающая система	300
24.2. Система фибринолиза	306
24.3. Антикоагулянтная система	308
Глава 25. Методы исследования системы гемостаза.	310
25.1. Оценка сосудисто-тромбоцитарного гемостаза	311
25.2. Оценочные тесты коагуляционного гемостаза	314
25.2.1. Оценка свертывающей системы	318
25.2.2. Контроль активности антикоагулянтной системы	325
25.2.3. Оценка системы фибринолиза	327
25.2.4. Тесты активации свертывания крови и фибринолиза	328
25.2.5. Интегральные тесты исследования гемостаза.	330
Глава 26. Общая характеристика гемостазиопатий	332
Глава 27. Патология тромбоцитарного гемостаза	338
27.1. Тромбоцитопении	338
27.1.1. Первичная иммунная тромбоцитопения	340
27.2. Тромбоцитопатии	345

Глава 28. Патология сосудистого гемостаза	349
28.1. Наследственная геморрагическая телеангиэктазия	349
28.2. Геморрагический васкулит	352
Глава 29. Патология плазменного гемостаза	357
29.1. Гемофилии	357
29.2. Болезнь Виллебранда	363
29.3. Синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови	367
Глава 30. Тромбофилии.	376
Глава 31. Антифосфолипидный синдром	382
ПРИЛОЖЕНИЕ	391
ЛИТЕРАТУРА	396



РАЗДЕЛ I

ЛАБОРАТОРНЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ В ГЕМАТОЛОГИИ

Глава 1

КОСТНОМОЗГОВОЕ КРОВЕТВОРЕНИЕ

Кроветворный (или красный) костный мозг (КМ) у взрослого человека является единственным кроветворным органом и располагается в губчатых костях скелета и в эпифизах трубчатых костей. Сосудистая сеть КМ образуется двумя источниками: центральной артерией кости и множественными кортикальными артериями, пронизывающими наружную пластинку кости. Концевые капилляры этих двух сосудистых систем соединяются и образуют костномозговые синусы. Кроветворение в норме происходит островками, которые локализуются на костномозговых балках вне сосудистых синусов и состоят из определенного вида клеток. Так, развитие эритроцитов происходит в эритробластных островках, состоящих из центрально расположенного макрофага и окружающих его эритроидных клеток на разных стадиях созревания, причем островки концентрируются непосредственно напротив синуса. Развитие гранулоцитов происходит в островках, локализующихся в отдалении от синусов, а по мере созревания клетки передвигаются ближе к стенке венозного синуса.

Критическое значение для размножения и дифференцировки кроветворных клеток имеет строма КМ (так называемое стромальное микроокружение). Она состоит из клеток и экстрацеллюлярного матрикса. К **стромальным клеткам** относят ретикулярные клетки, остеобласты, фибробласты и фиброциты, эндотелиальные и жировые клетки.

Ретикулярные клетки имеют размер 18–30 мкм. Ядро круглое или овальное, структура ядра ажурная, иногда неравномерно-нитчатая и напоминает ядро моноцита, может содержать 1–2 ядрышка. Цитоплазма обильная, чаще всего с нерезко очерченными границами, нередко отростчатая, окрашивается в светло-голубой или серовато-голубой цвет, иногда содержит пылевидную азурофильную зернистость. В норме эти клетки в пунктате КМ содержатся в небольшом количестве.

Фибробласты (фиброциты) имеют веретенообразную форму; цитоплазма базофильная, по полюсам вытянута в виде хвостов с нечеткими границами. Ядро округлой формы, определяются нуклеолы.

Остеобласты — клетки до 20–25 мкм удлинённой или неправильной формы, ядро овальное, расположено эксцентрично, цитоплазма серо-голубая.

Эндотелиальные клетки в мазках КМ представлены в виде тяжёлых, в которых содержатся ядра вытянутой формы.

Жировые клетки имеют размер до 40 мкм в диаметре, маленькое эксцентрично расположенное ядро, бесцветную цитоплазму (при окраске суданом в ней определяется жир).

Экстрацеллюлярный матрикс образуется в результате секреции клетками стромы. Компоненты экстрацеллюлярного матрикса (фибронектин, коллагены, ламинин, тромбоспондин) являются адгезивными белками для кроветворных клеток, а также обеспечивают связывание и аккумуляцию ростовых факторов (гликозаминогликаны).

Клетки стромы и внеклеточный матрикс образуют сеть, в которой располагаются кроветворные элементы. При этом гемопоэтические клетки находятся в тесном контакте с клетками стромы. Такой контакт (гранулоцитопоэтических клеток — с фибробластами и адипоцитами, а эритропоэтических клеток — с макрофагами) необходим для индукции пролиферативного процесса кроветворных клеток. Кроме того, стромальные клетки вырабатывают растворимые гемопоэтические факторы роста (колониестимулирующие факторы, ИЛ-6, ИЛ-7 и др.), обеспечивающие оптимальные условия для пролиферации и дифференцировки клеток крови. Функциональные и структурные изменения стромального микроокружения могут быть причиной нарушения кроветворной функции КМ.

1.1. КЛЕТКИ КРОВЕТВОРНОЙ ТКАНИ И ИХ ПРОИЗВОДНЫЕ

Для поддержания стабильного количества клеток в периферической крови КМ должен ежедневно продуцировать около 10^{10} клеток. Такая возможность обеспечивается существованием клеток, обладающих способностью

к интенсивной и длительной пролиферации, а также к дифференцировке в неделящиеся клетки крови. Их называют **гемопоэтические стволовые клетки** (ГСК). Морфологически ГСК не идентифицируются (напоминают малый лимфоцит), поэтому их выявляют по наличию поверхностных дифференцировочных антигенов с помощью моноклональных антител. Характерным маркером ГСК является CD34. Эта молекула также играет важную роль в адгезии ГСК к стромальным элементам КМ. По мере дифференцировки плотность CD34 на кроветворных клетках уменьшается, а полностью дифференцированные клетки CD34 не экспрессируют. Общее содержание CD34⁺-клеток в КМ составляет 1–4% (ГСК + клетки-предшественницы).

Существование ГСК и их полипотентность доказана оригинальными научными исследованиями:

- показано, что костномозговые клетки, введенные летально облученным мышам, мигрируют в селезенку и там пролиферируют, образуя колонии. Эти колонии, образованные из одной стволовой клетки (колонионеобразующая единица селезенки – КОЕ-С), могут быть представлены любым типом клеток – эритроидными, гранулоцитарными, мегакариоцитарными или смешанными;

- при облучении клонообразующей клетки возникающая в ней хромосомная перестройка обнаруживается впоследствии во всех линиях кроветворных клеток (эритроцитах, гранулоцитах, моноцитах-макрофагах, мегакариоцитах, лимфоцитах);

- генетическое маркирование ГСК (введение чужеродной ДНК-последовательности в геном) позволяет обнаружить клетки с таким маркером в различных лимфоидных и лимфомиелоидных органах – тимусе, КМ, селезенке, лимфоидных узлах и др., что указывает на общего предшественника.

Основными свойствами популяции ГСК являются: 1) полипотентность (возможность дифференцироваться по всем росткам кроветворения); 2) способность к самоподдержанию, которая является ключевой в концепции стволовой клетки.

Данный феномен может быть связан с асимметричным делением ГСК, в результате которого образуется одна коммитированная клетка-предшественница, а вторая – полипотентная клетка-предшественница гемопоэза, причем последняя может вновь вернуться в состояние покоя. Это явление называют квантовым митозом. Как регулируется квантовый митоз, неясно; предполагается важнейшая роль костномозговой стромы и микроокружения (за счет воздействия ростстимулирующих гормонов, цитокинов и т.д.).

С определенной условностью схему дифференцировки ГСК можно представить следующим образом: ГСК → полипотентные гемопоэтические клетки-предшественницы → унипотентные клетки-предшественницы → пролиферирующие клетки гемопоэза → зрелые клетки.

Пролиферирующие клетки гемопоэза — это молодые клетки, способные к делению. Их количество составляет 2–10% от всех клеток гемопоэза. Следует подчеркнуть, что эти клетки в отличие от ГСК и полипотентных гемопоэтических клеток-предшественниц, являются морфологически распознаваемыми, т.е. подлежат подсчету при гематологических исследованиях.

Созревание (дифференцировка) молодых клеток происходит параллельно с пролиферацией (размножением). Пролиферация осуществляется митотическим путем: в процессе деления (митоза) генетический материал равномерно распределяется между дочерними генерациями. Созревание клетки происходит между митозами и сопровождается синтезом белков, обладающих специфической рецепторной или ферментативной активностью и определяющих уровень ее дифференцировки. При этом замедляется синтез ДНК вплоть до его прекращения.

На поздних этапах происходит созревание клеток без пролиферации (так называемый *непролиферативный пул*). В итоге образуются зрелые клетки (составляют около 90% всей популяции гемопоэтических клеток), которые выходят в периферическую кровь. Поскольку кроветворение происходит на костномозговых балках, для выхода в кровоток клеткам необходимо преодолеть барьер в виде стенки сосудистого синуса. Эта преграда состоит из трех слоев: с внутренней стороны синуса — базальная мембрана, затем слой эндотелиальных клеток, к которым снаружи вплотную примыкают адвентициальные клетки и мегакариоциты. Под давлением растущих островков кроветворной ткани в эндотелиальных клетках временно образуются так называемые миграционные поры — узкие отверстия диаметром 1–1,2 мкм, через которые зрелые клетки проникают внутрь синусов. Для прохождения через такие отверстия клетки должны обладать эластичной мембраной, способностью к деформации без повреждения и быстрому восстановлению формы. Считается, что наличие этих свойств определяет зрелость клеток и их избирательную способность к выходу из КМ.

На пути к эндотелиальной стенке клеткам крови приходится проходить иногда и сквозь другие клеточные элементы, например мегакариоциты. Такое прохождение одних клеточных элементов сквозь другие получило название эмпириополизиса. Физиологический смысл его пока недостаточно изучен. Не исключено, что в процессе эмпириополизиса клетки обмениваются некими сигналами, необходимыми для их метаболизма. Особое значение этот процесс имеет для эритропоэза. Зафиксировано, что в ряде случаев именно во время эмпириополизиса оксифильных нормоцитов через мегакариоциты и эндотелиальные клетки происходит их денуклеация.

1.2. ЭРИТРОПОЭЗ

Красный росток гемопоэза (эритроидные клетки всех стадий развития) принято называть *эритроном*. Выделяют следующие этапы дифференцировки клеток в эритропе (Г.И. Козинец, 2004):

- ранние предшественники клеток эритроидного ряда (в их числе нечувствительные и чувствительные к эритропоэтину);

■ морфологически идентифицируемые синтезирующие гемоглобин ядродержащие клетки (пролиферирующие и непролиферирующие);

■ ретикулоциты и эритроциты.

Первой морфологически распознаваемой клеткой эритронона является эритробласт. Дальнейшие этапы созревания эритроидного ростка следующие: эритробласт → проэритробласт → нормобласт базофильный → нормобласт полихроматофильный → нормобласт оксифильный → ретикулоцит → эритроцит. Эритробласты, проэритробласты и нормобласты, включая полихроматофильные, составляют пролиферирующий пул эритроидного ростка, а оксифильные нормобласты и ретикулоциты созревают без деления и образуют непролиферирующий пул. Для созревания эритроидных клеток требуется непосредственный контакт с макрофагами КМ. Последние обеспечивают доставку железа в эритробласты, выделяют необходимые ростовые факторы, а также могут осуществлять фагоцитоз выталкиваемых из оксифильных нормобластов ядер.

Основным событием эритропоэза является синтез гемоглобина, который начинается уже на стадии эритробласта. Синтез гемоглобина контролирует синтез ДНК: чем больше гемоглобина в цитоплазме нормобласта, тем медленнее происходит синтез ДНК. Содержание гемоглобина 13,5 пг является критической величиной — синтез ДНК полностью прекращается, клетка выключается из митотического цикла, дальнейшее созревание происходит без деления. При нормобластическом эритропоэзе это происходит на стадии оксифильного нормобласта, при этом ядро клетки становится маленьким, пикнотическим, происходит выталкивание ядра, после чего клетка переходит в следующую стадию — костномозговой ретикулоцит.

Из одного эритробласта в результате митозов появляется от 16 до 32 ретикулоцитов. Продолжительность цикла от эритробласта до ретикулоцита составляет от 3—4 до 5—7 дней. Ретикулоцит созревает сначала в пределах КМ (приблизительно 2—3 дня), а затем уже более зрелые ретикулоциты переходят в периферическую кровь. В ретикулоцитах ранних стадий созревания (сразу после выталкивания ядра из цитоплазмы нормобласта) ДНК не обнаруживается, но остаются РНК-содержащие структуры (полирибосомы и отдельно лежащие рибосомы), остатки митохондрий и сетчатого аппарата Гольджи, сохраняется способность к синтезу гемоглобина. По мере созревания в ретикулоците исчезают полирибосомы, происходит экзоцитоз митохондрий, на конечных стадиях ретикулоцит теряет способность синтезировать гемоглобин. На этой стадии созревания ретикулоциты появляются в периферической крови, где в течение 24—30 ч превращаются в зрелые эритроциты. Наличие в ретикулоцитах комплекса рибосом и долгоживущих матричных РНК (*substantia reticulofilamentosa*) позволяет проводить их идентификацию с использованием специальных методов окрашивания. В норме клеточные элементы эритропоэза размножаются чрезвычайно интенсивно. За сутки в КМ образуется до $2 \cdot 10^{11}$ эритроидных клеток.

Кроме вышеописанного, в нормальном эритропоэзе работает и другой механизм созревания эритроцитов. В небольшом количестве клеток (5–10%) нарушается внутриклеточный обмен, в результате чего они не заканчивают свой цикл дифференцировки до зрелого эритроцита и гибнут в КМ, причем гибель может происходить на любой стадии дифференцировки эритроидных клеток. Внутрикостномозговое разрушение ядросодержащих эритроидных предшественников называют *неэффективным эритропоэзом*. Физиологическое значение неэффективного эритропоэза до конца не ясно. Возможно, таким образом осуществляется регуляция равновесия в системе эритрона при изменяющихся условиях существования организма. При различных анемиях доля неэффективного эритропоэза может увеличиваться. Так, при дефиците витамина B_{12} и/или фолиевой кислоты (ФК) неэффективный эритропоэз наблюдается со стадии эритроблеста, который вследствие десинхронизации созревания цитоплазмы и ядра превращается в мегалобласт. Происходит замена нормобластического кроветворения на мегалобластическое (рис. 1.1).

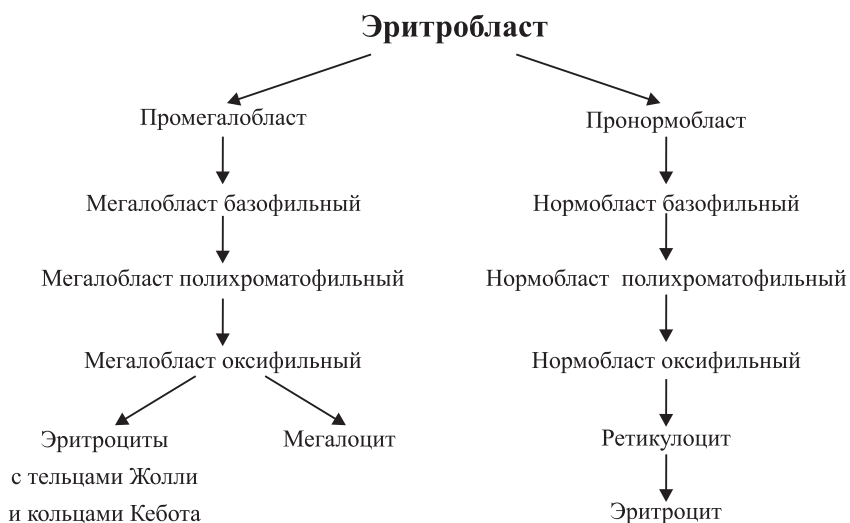


Рис. 1.1. Мегалобластический и нормобластический типы эритропоэза

В норме мегалобластическое кроветворение наблюдается только в эмбриональном периоде. Мегалоциты обладают рядом свойств, невыгодно отличающих их от эритроцитов: медленное созревание (7–12 дней, тогда как эритроцитов 4–5 дней), низкая скорость размножения, малая продолжительность жизни (27–75 дней). Кроме этого, мегалоциты вследствие крупных размеров значительно повреждаются в селезеночных синусах. Поэтому замена нормобластического кроветворения мегалобластическим неблагоприятна для организма и сопровождается развитием тяжелой прогрессирующей анемии.

Регуляция эритропоэза на самых ранних этапах контролируется медиаторами, продуцируемыми стромальными элементами КМ, гранулоцитарно-макрофагальным колониестимулирующим фактором (ГМ-КСФ) и фактором стволовых

клеток. Дальнейшая пролиферация и созревание клеток эритрона (последние 8–10 делений) контролируются эритропоэтином.

Эритропоэтин — гликопротеин с молекулярной массой 32–36 kD. Примерно 90% эритропоэтина синтезируется в клетках капилляров почечных клубочков и до 10% продуцируется клетками печени. В небольших количествах эритропоэтин синтезируется астроцитами нервной ткани, где выполняет нейропротективную роль при гипоксических и ишемических поражениях головного мозга. Основным фактором, стимулирующим биосинтез эритропоэтина, является гипоксия. Установлено, что в условиях гипоксии любого генеза уровень эритропоэтина в плазме повышается в 100–1000 раз (в норме составляет около 0,01–0,03 МЕ/мкл). Синтез регулируется вегетативной нервной системой (симпатические нервы активируют его выработку, парасимпатические — угнетают) и рядом гормонов. Соматотропин, адренокортикотропный гормон (АКТГ), пролактин, тироксин, глюкокортикостероиды (ГКС) и тестостерон усиливают продукцию эритропоэтина и его стимулирующее действие на кроветворение. Эстрогены угнетают его образование и стимулирующее действие на гемопоэз. Следует отметить, что эритропоэтин индуцирует не только эритроидную, но и мегакариоцитарную дифференцировку и пролиферацию.

Зрелые эритроциты в норме у взрослых людей имеют срок жизни 100–120 дней, у доношенных новорожденных детей 60–70 дней, а у недоношенных — 35–50 дней. На исходе этого срока снижается активность ферментов эритроцитов, уменьшается способность клетки к обратимой деформации, увеличивается чувствительность к оксидантным воздействиям. Деструкция стареющих эритроцитов происходит большей частью (~ 90%) путем фагоцитоза клетками макрофагальной системы преимущественно в селезенке. Меньшее значение имеют лизис и фрагментация клеток внутри сосудов. Разрушение эритроцитов приводит к высвобождению свободного гемоглобина в плазму, где он связывается с гаптоглобином, что обеспечивает поступление железа на переработку в ретикулоэндотелиальную систему и активацию деградации гема. Поэтому при гемолизе обнаруживается снижение содержания гаптоглобина в плазме крови (см. гл. 13). Порфириновое кольцо гема превращается в биливердин, а затем в билирубин (увеличение свободного билирубина в сыворотке также служит признаком гемолиза). Глобин под действием протеолитических ферментов разрушается до аминокислот. Двухвалентное железо гемоглобина откладывается в форме ферритина в макрофагах, образуя резерв железа, либо повторно используется для синтеза гемоглобина. В физиологических условиях число разрушающихся эритроцитов равно числу вновь генерируемых, благодаря чему постоянно сохраняется их определенное количество в периферической крови.

1.3. ГРАНУЛОЦИТОПОЭЗ

Схематически дифференцировку гранулоцитов можно представить следующим образом: ГСК → полипотентные гемопоэтические клетки-предшественницы миелопоэза → унипотентные клетки-предшественницы гранулоцитопоэза → клетки-предшественницы нейтрофилопоэза (аналогично эозинофилов, базофилов) → миелобласт → промиелоцит → миелоцит → метамиелоцит → палочкоядерный нейтрофил (эозинофил, базофил) → сегментоядерный нейтрофил (эозинофил, базофил).

Первой морфологически распознаваемой клеткой гранулоцитарного ростка КМ является *миелобласт*. На стадии позднего миелобласта-промиелоцита в клетках нейтрофильного ряда начинается формирование гранул. Первыми образуются азурофильные гранулы (первичные), которые получили такое название вследствие способности окрашиваться азуром А, так как содержат кислые мукополисахариды. При окраске по Романовскому – Гимзе они приобретают красно-пурпурный цвет. В процессе созревания клетки гранулы теряют метакромазию и в зрелых нейтрофилах имеют фиолетовое окрашивание.

Гранулы – это лизосомы, содержащие ферменты и другие биологически активные вещества. Основным маркером первичных гранул является пероксидаза. Кроме того, там содержатся бактерицидные белки – эластаза, кислая фосфатаза, арилсульфатаза, катепсин G, лизоцим, дефензины и др.

На стадии *миелоцита* появляются специфические (вторичные) гранулы. Они имеют малые размеры, в результате чего как бы сливаются, создавая розовый фон цитоплазмы. В отличие от азурофильных гранул они не окрашиваются азуром А, не содержат миелопероксидазу и кислую фосфатазу, но в них обнаруживается щелочная фосфатаза (ЩФ) и лактоферрин (являются маркерами вторичных гранул), а также катионный белок кателицидин, транскобаламин, фибронектин, лизоцим, коллагеназа, витронектин и др.

В настоящее время доказано существование еще одного типа нейтрофильной зернистости – третичных гранул, в состав которых входит желатиназа. Биосинтез желатиназы происходит преимущественно в палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилах независимо от специфических гранул. Желатиназа рассматривается как маркер циркулирующих нейтрофилов.

Миелобласты, промиелоциты и часть миелоцитов (более крупные – материнские) являются активно пролиферирующими клетками. Дальнейшую дифференцировку гранулоциты проходят без деления, в составе непролиферативного пула КМ (метамиелоциты, палочко- и сегментоядерные). В сутки образуется равное количество гранулоцитов пролиферирующего и непролиферирующего пула (по $0,85 \cdot 10^9$ клеток на 1 кг массы тела).

Количество митотических циклов, которые проходят пролиферирующие клетки миелоидного ростка зависит от потребностей организма. Это обеспечивается существованием физиологического механизма временного выхода части миелоцитов из митотического цикла (переход из G_1 -фазы

в G_0 -фазу). В условиях отсутствия стимуляции миелобласт делится 4–6 раз, созревая в миелоцит, а последний проходит два митотических цикла до выхода из пролиферативного пула. При повышенных запросах организма (например, при бактериальной инфекции) число митотических циклов в этой стадии дифференцировки может увеличиться до 4, что и создает дополнительную продукцию гранулоцитов.

Нейтрофильные, эозинофильные и базофильные гранулоциты имеют сходные модели пролиферации, дифференцировки, хранения и выхода в кровь, однако наиболее подробно эти процессы изучены у нейтрофилов.

Процесс формирования зрелого *нейтрофила* из миелобласта осуществляется в КМ в течение 10–13 дней. При повышенных потребностях организма этот процесс может значительно ускоряться. После созревания палочкоядерные и сегментоядерные нейтрофилы не покидают сразу КМ, а сохраняются в синусах в течение 4–5 дней перед выходом в сосудистое русло. Эти клетки составляют так называемый *костномозговой гранулоцитарный резерв*, который по численности почти в 30 раз превышает число циркулирующих лейкоцитов. Клетки костномозгового резерва каждые 3–5 дней обновляются.

От полноценности костномозгового резерва часто зависит исход заболевания. При бактериальных инфекциях мобилизация лейкоцитов из костномозгового резерва обеспечивает быстрое развитие нейтрофилеза. В случаях длительно текущих тяжелых воспалительных процессов костномозговой резерв может истощаться, что проявляется нормализацией или снижением абсолютного количества лейкоцитов с одновременным сдвигом формулы влево и служит признаком неблагоприятного прогноза.

Процесс проникновения нейтрофилов из синусов КМ в сосудистое русло является активным и осуществляется благодаря способности нейтрофилов к амебоидному движению, изменению формы и выделению протеолитических ферментов, уменьшающих вязкость основного вещества соединительной ткани.

В крови нейтрофилы распределяются на два пула: приблизительно половина находится в движении (циркулирующий пул), а другая — обратимо адгезируется к поверхности эндотелия (пристеночный или маргинальный пул). Место локализации маргинальных лейкоцитов — вдоль стенок мелких кровеносных сосудов (преимущественно посткапиллярных венул) во многих тканях организма. Пристеночный пул является запасным пулом зрелых нейтрофилов, которые могут быть в короткие сроки востребованы организмом. Оба пула у здорового человека находятся в равновесии, и между ними идет постоянный обмен. Перемещение клеток из маргинального пула в циркулирующий происходит под влиянием различных стрессогенных факторов (интенсивная мышечная нагрузка, острый стресс), однако нейтрофилез при этом кратковременный и длится всего несколько часов.

Общая продолжительность нахождения зрелых нейтрофилов в кровотоке составляет 6–12 ч, после чего клетки переходят в ткани, где живут в течение

4–5 дней. Переход из сосудистого русла в ткани в физиологических условиях осуществляется стохастически, но при патологических состояниях происходит активная целенаправленная миграция лейкоцитов к очагу поражения под действием хемотаксических факторов поврежденной ткани. Нейтрофилы, прошедшие эндотелиальный барьер между кровью и тканями, не возвращаются обратно в циркуляцию. В течение 2–4 дней они погибают путем апоптоза, а в случае наличия воспалительного процесса — путем некроза. В процессе апоптоза происходит конденсация ядра нейтрофилов с последующей фрагментацией на нуклеосомы и поглощением апоптозных клеток макрофагами. Путем апоптоза разрушается и небольшая часть нейтрофилов непосредственно в сосудистом русле.

В очагах воспаления нейтрофилы живут дольше, что обеспечивается действием биологически активных факторов, задерживающих апоптоз (в частности, ГМ-КСФ). Гибель нейтрофилов при этом осуществляется путем некроза, в результате чего происходит выброс энзимов из гранул и усиление воспалительной реакции.

Продолжительность созревания *эозинофилов* несколько короче, чем нейтрофилов, и составляет приблизительно 3–4 суток, после чего они в течение 2–5 суток остаются в КМ, а затем выходят в сосудистое русло, где циркулируют в течение 10–18 ч, впоследствии мигрируют в ткани, накапливаясь в наибольшем количестве в коже, легких, желудочно-кишечном тракте (ЖКТ). Время их жизнедеятельности в тканях составляет до 6 дней. Считают, что тканевые эозинофилы могут возвращаться в сосудистое русло, чем объясняют длительность эозинофильных реакций.

Эозинофилы не формируют пристеночный пул, поэтому развитие воспаления и поступление туда эозинофилов сопровождается эозинофилопенией. Нормализация их уровня в периферической крови и затем эозинофилия наблюдаются вследствие ответной реакции со стороны КМ.

В целом эозинофилы имеют сходный с нейтрофилами путь созревания, однако формируют только один вид гранул. Гранулы содержат миелопероксидазу (отличающуюся от таковой в нейтрофилах по биохимическим и функциональным свойствам), катионные белки, главный основной протеин (составляет основную часть белка гранул, обуславливает окрашивание гранул в яркий оранжевый цвет), арилсульфатазу, гистаминазу, β -глюкуронидазу, эозинофильный нейротоксин и др. Гранулы эозинофилов в отличие от нейтрофилов не содержат лизоцим и ЩФ.

Кинетика образования *базофилов* сходна с таковой у эозинофилов и нейтрофилов, хотя ее изучение затруднено вследствие малочисленности популяции. Дифференцировка базофилов в КМ длится до 5 суток. Базофилы находятся в крови в течение приблизительно 10 ч, после чего поступают в ткани, где по истечении 1–2 суток после осуществления основной эффекторной функции погибают.

Название клеток (базофилы) обусловлено способностью гранул окрашиваться в лилово-синий цвет. Считают, что такое окрашивание обеспечивается

присутствием большого количества сульфатированных кислых белков, таких как гепарин. Основной компонент гранул базофилов — гистамин. Фактически весь гистамин крови человека сконцентрирован в гранулах базофилов. В них также содержится в большом количестве главный основной протеин (как в эозинофилах), но отсутствует (по крайней мере, не определяется цитохимически) кислая фосфатаза и ЩФ.

Регуляция гранулоцитопоеза на самых ранних этапах (формирование коммитированных предшественников) осуществляется синергичными взаимодействиями колониестимулирующих факторов (ГМ-КСФ, Г-КСФ) и ИЛ-3, которые вырабатываются клетками стромы. Заключительные этапы образования нейтрофилов контролируются Г-КСФ и ГМ-КСФ. Продукция этих факторов существенно возрастает при воспалительных процессах под действием ИЛ-1 и фактора некроза опухоли (ФНО). В регуляции дифференцировки и созревания эозинофилов ведущую роль играет ИЛ-5, в меньшей степени участвуют ИЛ-3 и ГМ-КСФ. В росте и созревании базофилов принимают участие ИЛ-3, ГМ-КСФ, ИЛ-5. Особая роль отводится ИЛ-4, для которого на клеточной мембране базофила имеются рецепторы. Существуют доказательства, что ИЛ-4 является важнейшим медиатором роста и активации базофилов и тучных клеток.

Г-КСФ — гликопротеин с молекулярной массой 19 kD. Вырабатывается, кроме стромальных элементов, клетками эндотелия, эпителия, макрофагами под действием физиологических индукторов — ИЛ-1, ФНО. Регуляция активности нейтрофилов осуществляется через взаимодействие с рецепторами для Г-КСФ. Содержание Г-КСФ в сыворотке крови здоровых людей составляет около 30–50 пкг/мл.

ГМ-КСФ — гликопротеин с молекулярной массой 14–35 kD. Является ростовым фактором для клеток-предшественниц различных направлений дифференцировки (эритроидных, гранулоцитарных, моноцитарных, мегакарицитарных). Цитокин вырабатывается моноцитами/макрофагами, фибробластами, Т-лимфоцитами, эпителиальными клетками. ГМ-КСФ стимулирует пролиферацию незрелых гемопоэтических клеток и их дифференцировку с образованием зрелых гранулоцитов и мононуклеарных фагоцитов. Применяется в клинической практике для ускорения восстановления гемопоэтических функций после трансплантации КМ и снижения риска развития связанных с ней заболеваний, а также для предупреждения аплазии КМ на фоне химиотерапии.

ИЛ-3 — гликопротеин с молекулярной массой 23–28 kD. Продуцируется Т-клетками, эпителиальными клетками тимуса, тканевыми базофилами. Клетками-мишенями ИЛ-3 являются CD34⁺-клетки — предшественницы миелопоэза.

ИЛ-4 — гликопротеин с молекулярной массой 18–22 kD. Продуцентами ИЛ-4 являются стимулированные антигенами Т-хелперы типа 2, а также тучные клетки и клетки стромы КМ. Основными мишенями действия ИЛ-4 являются В-лимфоциты, тучные клетки, базофилы. В сочетании

с другими ростовыми факторами (Г-КСФ, ИЛ-3) ИЛ-4 усиливает развитие костномозговых клеток-предшественниц всех ростков кроветворения.

ИЛ-5 — гликопротеин с молекулярной массой 45–50 kD. Продуцируется преимущественно Т-хелперами типа 2. ИЛ-5 усиливает пролиферацию и дифференцировку костномозговых предшественников эозинофилов, стимулирует их хемотаксис, повышает жизнеспособность. Способствует вовлечению этих клеток в воспалительные реакции, антипаразитарную и противоопухолевую защиту.

1.4. ЛИМФОЦИТОПОЭЗ

Лимфоциты на уровне ГСК имеют общую с миелоидными элементами клетку-предшественницу, но затем они приобретают независимую линию дифференцировки (рис. 1.2). Общий стволовой элемент делится на полипотентную клетку-предшественницу для миелопоэза и предшественницу лимфопоэза. Последняя разделяется на две самостоятельные линии развития, приводящие к образованию Т- и В-клеток: предшественники Т-клеток заселяют тимус, а предшественники В-клеток продолжают дальнейшее развитие в КМ. При этом клетки проходят следующие этапы созревания: лимфобласт → пролимфоцит → лимфоцит.

Морфологически как созревающие, так и зрелые Т- и В-лимфоциты не различаются между собой. Принадлежность лимфоцитов к определенной популяции (или субпопуляции), а также оценка степени их дифференцировки устанавливается путем выявления мембранных антигенов с помощью моноклональных антител (иммунофенотипирование). При этом каждая субпопуляция лимфоцитов имеет характерный набор поверхностных рецепторов (фенотип), который формируется в процессе созревания клеток сначала на этапе антигеннезависимой дифференцировки в первичных лимфоидных органах (тимус, КМ), а затем на этапе антигензависимой дифференцировки во вторичных лимфоидных структурах (лимфатические узлы, селезенка, лимфоидные скопления).

Лимфопоэз Т-лимфоцитов. Ранние предшественники Т-лимфоцитов формируются в КМ. Одним из первых Т-клеточных маркеров является CD7, появление которого на незрелых гемопоэтических клетках указывает на Т-клеточную направленность дифференцировки. Позже начинается цитоплазматическая экспрессия CD2 и CD3, а затем мембранная экспрессия CD5. Предшественники Т-лимфоцитов покидают КМ и мигрируют в вилочковую железу (тимус). Под влиянием эпителиальных клеток тимуса и вырабатываемых ими ростовых факторов тимоциты проходят ряд последовательных стадий созревания, передвигаясь из капсулярной зоны в кортикальную, а затем в медуллярную. За это время они приобретают необходимые для распознавания антигена мембранные рецепторы (Т-клеточный рецептор для антигена — TCR, субъединицей которого является CD3), CD2, а также делятся на две основные субпопуляции — Т-хелперы (CD4⁺) и Т-цитотоксические (CD8⁺).



Прошедшие внутритимусную дифференцировку Т-лимфоциты выходят из тимуса по кровеносным сосудам и направляются на периферию. Они заселяют определенные области периферической лимфоидной системы, формируя так называемые тимус-зависимые зоны во вторичных лимфоидных органах (паракортикальная зона лимфоузлов, периартериальные муфты лимфатических фолликулов селезенки).

Лимфопоэз В-лимфоцитов. Центральным органом В-системы иммунитета является КМ — основное место созревания В-клеток. Дифференцировка В-лимфоцитов на территории КМ происходит под прямым воздействием клеток стромы. На ранних этапах развития — это прямое контактное взаимодействие через рецепторы межклеточной адгезии, что обеспечивает оседлость развивающихся В-лимфоцитов. На более поздних этапах действие стромальных клеток осуществляется через вырабатываемые ими факторы роста для необходимого числа циклов пролиферации (например, ИЛ-7).

Лимфопоэз В-лимфоцитов в КМ включает пять основных стадий:

- стволовая кроветворная клетка — предшественник всех ростков дифференцировки лимфомиелопоэза;
- общий лимфоидный предшественник для Т- и В-клеток, для которого направление развития (Т или В) еще не определено;
- коммитированная клетка-предшественница В-лимфоцита (про-В-клетка, от англ. *progenitor*);
- пре-В-клетка — клеточный тип, окончательно вышедший на В-клеточный путь развития;
- незрелая В-клетка — заключительная форма дифференцировки В-клеток в КМ.

В процессе созревания В-клеток в КМ происходит смена фенотипического репертуара (набора мембранных маркеров), что в гематологии широко используется для определения варианта лейкоза. На этапе про-В-лимфоцита появляется мембранный CD19 — общий (пан-В-клеточный) маркер для всех В-лимфоцитов. Позже начинает экспрессироваться мембранный CD10 и цитоплазматический CD22 (эту стадию называют пре-пре-В-лимфоцит). На этапе пре-В-лимфоцита появляются цитоплазматические μ -цепи и мембранный CD20. Экспрессия полноценного мембранного IgM в сочетании с другими маркерами соответствует стадии незрелой В-клетки. На этом этап лимфопоэза завершается, и клетки («наивные» В-лимфоциты) мигрируют по кровеносным сосудам в периферические лимфоидные органы.

Вышеописанные этапы созревания Т- и В-лимфоцитов называются антигеннезависимыми, так как предназначены для приобретения клетками способности к распознаванию антигена. Следующий этап — антигензависимый (иммуногенез) — происходит в периферических лимфоидных органах после встречи лимфоцитов с соответствующим антигеном. Под действием антигена распознавшие его лимфоциты активируются и быстро размножаются, в них усиливается синтез ДНК и происходят морфологические изменения.

Клетки увеличиваются в размере (15–20 мкм вместо 7–8 мкм в покое), разрыхляется ядро, становятся видимыми ядрышки. Такие клетки напоминают лимфоциты на бластных стадиях развития, поэтому их часто называют «иммунобласты». Через стадию активированных лимфоцитов формируются Т-клетки-эффекторы и регуляторы иммунного ответа. При стимуляции В-лимфоцитов происходит их трансформация в плазматические клетки (через стадии: активированный лимфоцит → плазмобласт → проплазмоцит → плазмоцит) и начинается активный синтез антител. При этом теряется большинство В-клеточных мембранных маркеров. Часть активированных Т- и В-клеток превращается в клетки памяти (дифференцированный резерв на случай, если тот же антиген попадет в организм повторно). Основные этапы созревания Т- и В-лимфоцитов и характерные для них рецепторы представлены на рис. 1.3, 1.4.

Регуляция пролиферации и дифференцировки Т-клеток на этапе лимфопоэза осуществляется под влиянием эпителиальных клеток тимуса, которые продуцируют комплекс цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-3, ИЛ-6, ИЛ-7, ГМ-КСФ), экспрессируют молекулы адгезии (LFA-3, ICAM-1), комплементарные молекулам адгезии на тимоцитах (CD2 и LFA-1 соответственно), и в целом обеспечивают удержание тимоцитов на территории тимуса и их созревание. Зрелые Т-клетки дифференцируются под действием антигенов, а также цитокинов, вырабатываемых на различных стадиях иммунного ответа. Стимуляция ИЛ-2 и антигеном активирует преимущественно размножение $CD8^+$ -Т-клеток, тогда как прямая стимуляция антигенраспознающего рецептора Т-клеток (TCR/CD3) вместе с CD28 вызывает преимущественно активацию CD4-Т-клеток.



Рис. 1.3. Схема дифференцировки В-лимфоцитов:
TdT – терминальная дезоксирибонуклеотидилтрансфераза; * – мембранная экспрессия;
** – цитоплазматическая экспрессия

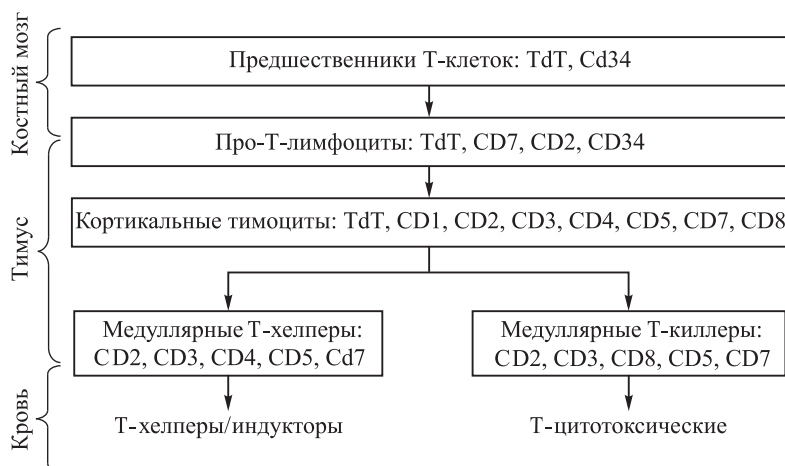


Рис. 1.4. Схема дифференцировки Т-лимфоцитов:
TdT — терминальная дезоксирибонуклеотидилтрансфераза

Регуляция пролиферации и дифференцировки В-клеток на начальных стадиях (предшественники В-клеток), как и клеток миелоидной линии, осуществляется ИЛ-7 и фактором стволовых клеток. На более поздних этапах (пре-В-клетки, В-клетки) дифференцировка и деление индуцируются через В-клеточные рецепторы для антигенов (мембранные иммуноглобулины М и D) и растворимые медиаторы, вырабатываемые Т-клетками и другими участниками иммунного ответа (прежде всего ИЛ-4, ИЛ-6).

Известно существование еще одной популяции лимфоцитов — естественных киллерных клеток (Nature Killer — НК-клетки). На самых ранних этапах развития они имеют общего предшественника с Т-клетками (см. рис. 1.2), а затем отделяются от Т-линии и продолжают развитие в КМ. В контроле пролиферации и дифференцировки естественных киллеров важнейшую роль играет ИЛ-15, а также ИЛ-2 и γ -интерферон. Зрелые НК-клетки покидают КМ и мигрируют в периферические органы иммунной системы. Количество НК-клеток в циркуляции составляет 10–15% от общего числа лимфоцитов периферической крови. Это короткоживущие клетки (время полужизни составляет 7–10 суток). *Регуляция роста* и поддержание жизнеспособности НК-клеток осуществляется ИЛ-15 и ИЛ-7.

ИЛ-15 — гликопротеин с молекулярной массой 15 kD. Продуцентами ИЛ-15 являются разные клетки, в том числе моноциты/макрофаги, дендритные клетки, Т-хелперы, клетки стромы КМ и др. Основными мишенями действия ИЛ-15, кроме НК-клеток, являются Т-лимфоциты, нейтрофилы, эозинофилы.

ИЛ-7 — гликопротеин с молекулярной массой 25 kD. Продуцентами ИЛ-7 являются моноциты/макрофаги, дендритные клетки, В-клетки. Основными мишенями действия ИЛ-7, кроме НК-клеток, являются Т- и В-лимфоциты (действует как фактор роста).

1.5. МОНОЦИТОПОЭЗ

Дифференцировка моноцитов включает следующие этапы созревания: ГСК → полипотентные клетки-предшественницы миелопоэза → унипотентные клетки-предшественницы грануломоноцитопоэза → клетки-предшественницы моноцитов → монобласты → промоноциты → моноциты.

Процесс созревания монобластов в моноциты происходит в КМ в течение приблизительно 5 дней, после чего клетки сразу выходят в кровоток, не формируя в отличие от гранулоцитов костномозговой резерв. При этом, как и нейтрофилы, они подразделяются на циркулирующий и пристеночный пулы, причем маргинальный пул приблизительно в 3–3,5 раза больше. Однако в силу еще не до конца ясных причин перераспределительные моноцитозы наблюдаются гораздо реже перераспределительных нейтрофилезов, обычно только при очень тяжелых интоксикациях у агонирующих больных. Моноциты находятся в периферической крови от 36 до 104 ч, а затем проникают в ткани, где трансформируются в тканевые макрофаги. Внесосудистый пул моноцитов приблизительно в 25 раз превышает внутрисосудистый. Продолжительность жизни тканевых макрофагов составляет до нескольких месяцев. Установлено, что тканевые макрофаги в отличие от нейтрофилов при необходимости могут начать делиться, превращаясь в многоядерные клетки — остеокласты, эпителиоидные клетки и т.д. Кроме того, они могут возвращаться в сосудистое русло. В этих случаях в мазках крови можно встретить своеобразные моноцитоподобные клетки — гистиоциты. Единичные гистиоциты бывают в крови здоровых людей, а в более значительном количестве (2–3%) они появляются при тяжелых интоксикациях, затяжном септическом эндокардите. Наибольшее количество макрофагов содержится в печени (~ 56%), легких и селезенке (~ по 15%), перитонеальной полости (~ 8%) от общего содержания в организме.

Регуляция роста и дифференцировки моноцитов и макрофагов осуществляется группой ростовых факторов — стимуляторов (ИЛ-3, ГМ-КСФ, М-КСФ) и ингибиторов (интерферон- α и - β , простагландин, ИЛ-10). Часть моноцитов остается в КМ, где превращается в резидентные или оседлые макрофаги.

М-КСФ — гликопротеин с молекулярной массой 40–90 kD. Стимулирует жизнеспособность, пролиферацию и дифференцировку моноцитарно-макрофагальной линии клеток. Образуется мезенхимальными клетками, фибробластами, эндотелиальными клетками, моноцитами и макрофагами. Физиологические индукторы — ГМ-КСФ, ИЛ-3, ИЛ-4, ФНО.

1.6. ТРОМБОЦИТОПОЭЗ

Первой морфологически распознаваемой клеткой данного ряда является мегакариобласт. Дальнейшее развитие клетки осуществляется эндомитотическим путем — происходит многократное удвоение числа хромосом без деления клетки. Образуется промегакариоцит, затем мегакариоцит, представляющий

собой полиплоидную клетку с количеством ядер, достигающим 128 (основная часть мегакариоцитов содержит 8–16 ядер).

Процесс преобразования мегакариобластов в мегакариоциты продолжается около 25 ч. Жизненный цикл мегакариоцитов составляет приблизительно 10 суток. За это время происходит их постепенное созревание от более молодых (базофильных) до более зрелых (гранулярных) форм. Образование тромбоцитов осуществляется путем отшнуровки цитоплазмы от мегакариоцитов. Последние образуют длинные нитевидные отростки (их называют протромбоцитами), которые проникают через эндотелий в костномозговые синусы. В просвете синусоида цитоплазма протромбоцита после локальных сокращений разрывается, и он образует до 1000 тромбоцитов, поступающих с кровью из просвета синусоидов в кровеносное русло.

Сами протромбоциты или их фрагменты, содержащие до 100 тромбоцитов, также могут выходить из синусоида КМ в кровь. Они достигают микроциркуляторного русла легких, где из них освобождаются тромбоциты. Поэтому количество тромбоцитов оказывается более высоким в легочных венах, чем в легочной артерии. Количество тромбоцитов, образовавшихся в легких, может достигать 7–17% от массы тромбоцитов в крови.

Тромбоциты циркулируют в периферической крови в течение 10–12 дней, по истечении которых разрушаются, в основном в селезенке. По отношению к тромбоцитопоезу селезенка выполняет еще одну важную функцию — является депо тромбоцитов. С помощью радиоизотопной метки установлено, что приблизительно 1/3 тромбоцитов, попавших в кровеносное русло, накапливаются в селезенке, где они адгезированы к поверхности эндотелиальных клеток, выстилающих селезеночные синусы. Селезеночный пул тромбоцитов обменивается с циркулирующим пулом. При удалении селезенки развивается тромбоцитоз (отсутствие депонирования), тогда как при гиперспленизме логично ожидать тромбоцитопению.

Регуляция тромбоцитопоеза на самых ранних этапах (коммитированные мегакариоцитарные клетки-предшественницы) осуществляется ИЛ-3, ГМ-КСФ и фактором роста стволовых клеток. Более поздние этапы мегакариопоеза контролируются предположительно тромбопоэтином и ИЛ-11. Эти же медиаторы играют важнейшую роль в регуляции конечных стадий созревания мегакариоцитов и «отшнуровывании» тромбоцитов.

Тромбопоэтин — гликопротеидный гормон с молекулярной массой 35 kD. Синтезируется в печени (основное его количество), в значительно меньших количествах — в других тканях (почки, селезенка, эндотелиальные клетки, яичники и яички). Роль тромбопоэтина в регуляции тромбоцитопоеза возрастает по мере созревания клеток и максимально выражена на заключительном этапе (мегакариоцит → тромбоцит). Содержание тромбопоэтина в крови регулируется самими тромбоцитами, которые связывают его своими рецепторами (продукты протоонкогена c-mpl). Гормон

выделяется в кровь с постоянной скоростью, однако при тромбоцитопении клиренс его резко снижается, уровень в крови возрастает и, как следствие, увеличиваются мегакариоцитопоз в КМ и продукция тромбоцитов. При повышении количества тромбоцитов в крови развивается обратная ситуация.

Глава 2

ОСОБЕННОСТИ МОРФОЛОГИИ И ФУНКЦИИ КЛЕТОК КРОВИ И КОСТНОГО МОЗГА

Клетки периферической крови и КМ разнообразны по своим морфологическим особенностям, однако имеют ряд четких признаков, позволяющих производить их идентификацию. Оценка морфологии клеток крови имеет важнейшее значение для определения их принадлежности к определенному ростку кроветворения и степени зрелости и лежит в основе гематологической лабораторной диагностики патологии крови.

Идентификация клеток крови в окрашенных препаратах осуществляется по следующим морфологическим признакам:

- *величина и форма клетки.* Молодые клетки обычно крупнее зрелых. Форма клеток чаще округлая, реже — неправильная. Изменение формы клеток может иметь диагностическое значение (например, изменение формы эритроцитов — пойкилоцитоз, сфероцитоз, овалоцитоз и др.);

- *ядерно-цитоплазматическое отношение.* Обычно оно тем больше, чем моложе клетка. Особенно показательно его увеличение в бластных клетках;

- *форма и хроматиновое строение ядра.* Форма ядра молодых клеток круглая или слегка вогнутая, у большинства зрелых лейкоцитов отмечается склонность к ядерному полиморфизму. Рисунок ядра у незрелых клеток более нежный (мелкий, сглаженный), у зрелых — более грубый (крупный и густой). При окраске по Романовскому — Гимзе ядра молодых клеток выглядят более светлыми, а зрелых — окрашиваются в темно-фиолетовый цвет;

- *наличие или отсутствие нуклеол в ядре, их число и величина.* Нуклеолы — круглые образования светло-синего или светло-фиолетово-синего цвета в ядре незрелых клеток. Зрелые клетки, как правило, нуклеол не содержат. Если величина нуклеол превышает треть диаметра ядра, то это свидетельствует о злокачественной трансформации клетки;

- *цвет и структура цитоплазмы.* Цитоплазма молодых клеток базофильна, а при созревании у большинства клеток становится оксифильной. В цитоплазме одних клеток (эритробласты, плазмоциты) имеется просветление вокруг ядра, в других (плазматические, моноциты) — характерная вакуолизация;