

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«СИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ФЕДЕРАЛЬНОГО АГЕНТСТВА ПО ЗДРАВООХРАНЕНИЮ
И СОЦИАЛЬНОМУ РАЗВИТИЮ»

Н.В. Рязанцева, В.В. Новицкий,
О.Б. Жукова, О.И. Уразова, Т.Т. Радзивил,
И.В. Кулагина, Н.П. Ковалёва

СОВРЕМЕННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЫ

Учебное пособие

Рекомендовано Учебно-методическим объединением
по медицинскому и фармацевтическому образованию
вузов России в качестве учебного пособия для студентов,
обучающихся по специальностям
060112 — медицинская биохимия,
060113 — медицинская биофизика,
060114 — медицинская кибернетика



Томск — 2008

УДК 616-092.4/—098:001.895(075.8)

ББК Р345.С1/8я7

С 568

Рецензенты:

зав. курсом клинической лабораторной диагностики,
профессор кафедры госпитальной терапии ГОУ ВПО «Санкт-Петербургская
государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова»,

д-р мед. наук **Т.В. Вавилова**,

профессор кафедры клинической лабораторной диагностики
ГОУ ВПО «Красноярская государственная медицинская академия
Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»,
д-р мед. наук **М.В. Яманова**

Современные технологии лабораторной медицины: Учеб-
ное пособие / Н.В. Рязанцева, В.В. Новицкий, О.Б. Жукова,
О.И. Уразова, Т.Т. Радзивил, И.В. Кулагина, Н.П. Ковалёва — Томск: Изд-во «Печатная мануфактура», 2008. —
360 с.

ISBN 978-5-94476-140-8

В учебном пособии отражены современные алгоритмы лабораторной диагностики заболеваний системы крови, нарушений системы гемостаза и липидного обмена, патологии щитовидной железы, злокачественных новообразований, аутоиммунных нарушений. Особое внимание уделено использованию высокотехнологичных лабораторных подходов для диагностики широко встречающихся в клинической практике синдромов и заболеваний.

Учебное пособие предназначено для студентов медико-биологических факультетов медицинских вузов, а также может быть полезно для специалистов клинической лабораторной диагностики, врачей-клиницистов.

УДК 616-092.4/—098:001.895(075.8)

ББК Р345.С1/8я7

ISBN 978-5-94476-140-8

© Н.В. Рязанцева, В.В. Новицкий, О.Б. Жукова,
О.И. Уразова, Т.Т. Радзивил, И.В. Кулагина,
Н.П. Ковалёва, 2008

© ООО «Печатная мануфактура», макет, 2008

Авторы

Рязанцева Наталья Владимировна — д-р мед. наук, профессор, заведующая кафедрой фундаментальных основ клинической медицины Сибирского государственного медицинского университета

Новицкий Вячеслав Викторович — д-р мед. наук, профессор, академик РАМН, заслуженный деятель науки РФ, заведующий кафедрой патофизиологии Сибирского государственного медицинского университета

Жукова Оксана Борисовна — д-р мед. наук, доцент кафедры фундаментальных основ клинической медицины Сибирского государственного медицинского университета

Уразова Ольга Ивановна — д-р мед. наук, профессор, профессор кафедры патофизиологии Сибирского государственного медицинского университета

Радзивил Татьяна Тимофеевна — канд. мед. наук, доцент кафедры фундаментальных основ клинической медицины Сибирского государственного медицинского университета, заведующая централизованной клинико-диагностической лабораторией клинической больницы № 81 ФМБА России

Кулагина Ирина Владимировна — канд. мед. наук, доцент кафедры фундаментальных основ клинической медицины Сибирского государственного медицинского университета, заведующая клинико-диагностической лабораторией НИИ кардиологии Томского научного центра СО РАМН

Ковалёва Наталья Петровна — заведующая клинико-диагностической лабораторией НИИ онкологии Томского научного центра СО РАМН

Введение

Внедрение в медицину высоких технологий сопровождается разработкой оптимальных схем и методов диагностики патологических процессов и болезней. Около 70% диагностической информации о состоянии организма дают лабораторные методы исследования. Это обуславливает приоритет лабораторной медицины — молодой, бурно развивающейся отрасли медицины, основанной на достижениях молекулярной биологии, генетики, биохимии, биофизики, иммунологии и молекулярной патологии.

Современная клиническая лабораторная диагностика, являясь базовой медицинской специальностью, позволяет ответить на важнейшие вопросы, возникающие у врача в ходе постановки диагноза и лечения больного. Среди них определение специфических признаков (диагностических маркеров) того или иного заболевания; показателей активности патологического процесса; параметров, отражающих состояние гомеостатических систем организма, их компенсаторных возможностей; критериев эффективности назначенной терапии, а также достижения результатов лечения. Для этого обязательным условием являются высокая профессиональная компетентность лабораторных специалистов, их знания о современных методах исследования и владение ими, наличие доступных лабораториям ресурсов (современный приборный парк, реагенты и др.), а также адекватное финансирование.

Однако неперменной составляющей успешного диагностического процесса выступают знания клиницистов о возможностях лабораторной аналитики. Именно врач играет роль стратега и тактика при диагностике заболевания и слежении за его течением и результатами лечения. Сведения, получаемые из лаборато-

рии, врач может правильно оценить и интерпретировать только в том случае, если он владеет основами методологии исследования и ее возможностями. При этом клиницист не обязан знать технологию лабораторного анализа, но должен хорошо ориентироваться в возможностях лабораторной диагностики через понятия, оперируя понятиями «диагностическая чувствительность и специфичность», «диагностическая экономичность», «прогностическое значение результата исследования».

Совершенно очевидно, что эффективность выбранной врачом программы лабораторных исследований зависит от его фундаментальной подготовки в области биохимии, иммунологии, молекулярной биологии, генетики, цитологии и других дисциплин. При определении оптимального пути лабораторной диагностики и тактики интерпретации полученных данных важно обладать мышлением клинического патофизиолога. Кроме того, от степени ориентированности клиницистов в современных лабораторных технологиях зависит выбор стратегии ее развития в инфраструктуре медицинского учреждения.

Существенным звеном формирования тесного конструктивного сотрудничества лабораторных специалистов и клиницистов является использование потенциала медицинских вузов. Речь идет не только о целенаправленной подготовке и переподготовке специалистов клинической лабораторной диагностики. Принципиально важно, чтобы уже со студенческой скамьи будущие врачи получали систематизированные знания, направленные на освоение принципов рационального использования лабораторных тестов при различных видах патологии. Следует помнить еще об одной опасности — невозможности своевременно уследить за внедрением высоких технологий в область лабораторной медицины, что также значительно обедняет диагностический арсенал врача.

Выход из создавшегося положения видится в постоянном повышении квалификации специалистов клинической лабораторной диагностики, в преподавании актуальных аспектов лабораторной медицины на додипломном уровне, а также в рамках циклов усовершенствования и специализации врачей в соответствующих клинических дисциплинах. Это требует издания

систематизированных учебных пособий, отражающих современный взгляд на методологию использования достижений лабораторной медицины при диагностике актуальных болезней различного генеза.

Именно такой подход был использован при создании настоящего учебного пособия, предназначенного для студентов медицинских вузов, специалистов клинической лабораторной диагностики, врачей-клиницистов. При его написании авторы опирались на собственный опыт преподавания дисциплины на кафедре фундаментальных основ клинической медицины и на опыт преподавания гематологии на кафедре патофизиологии Сибирского государственного медицинского университета (г. Томск). В учебном пособии такого формата невозможно обсудить все аспекты столь разносторонней отрасли, как лабораторная медицина. Материал, представленный в книге, освещает современные алгоритмы лабораторной диагностики распространенных форм патологии человека — болезней системы крови, нарушений системы гемостаза и липидного обмена, патологии щитовидной железы, злокачественных новообразований, аутоиммунных заболеваний. Особое внимание уделено использованию высокотехнологичных лабораторных подходов для диагностики широко встречающихся в клинической практике синдромов.

Авторы с благодарностью примут все замечания и рекомендации по улучшению содержания книги.

Глава 1

СОВРЕМЕННЫЕ ЛАБОРАТОРНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

Важнейшим инструментом лабораторной медицины выступают аналитические методы, позволяющие в биологических материалах организма человека обнаружить и охарактеризовать отдельные компоненты, представляющие интерес для диагностики заболеваний и слежения за их течением. Значимым фактором совершенствования лабораторно-диагностического процесса является технологический прогресс средств лабораторного анализа.

Развитие лабораторных технологий направлено на решение ряда ключевых задач:

- повышение информативности лабораторных тестов по отношению к изучаемой патологии;
- внедрение тестов, позволяющих не только констатировать наличие патологии и осложнений, но и прогнозировать течение и исход патологического процесса;
- выявление генетических факторов риска;
- идентификация болезни на молекулярном уровне;
- достижение аналитической надежности результатов при использовании каждой технологии;
- снижение доли лабораторных ошибок и частоты повторных исследований;
- своевременность получения лабораторной информации клиникой с учетом темпа развития патологического процесса;
- сокращение сроков между назначением исследования и получением клиницистом результата анализа;
- экономическая эффективность нововведения (непосредственная и стратегическая).

Иммунологические методы исследования

Прогресс в области экспериментальной и клинической иммунологии позволил разработать множество методов лабораторной диагностики, основанных на применении антител. Эти методы наиболее часто используются в диагностике иммунодефицитных состояний, аутоиммунных и аллергических заболеваний, злокачественных новообразований и др.

Твердофазный иммуноферментный анализ

Твердофазный иммуноферментный анализ (ИФА) — высокочувствительный метод, применяемый для количественной оценки антител и антигенов. При проведении ИФА в качестве твердой фазы чаще всего используются полистироловые планшеты с сорбированными на них антигенами или антителами.

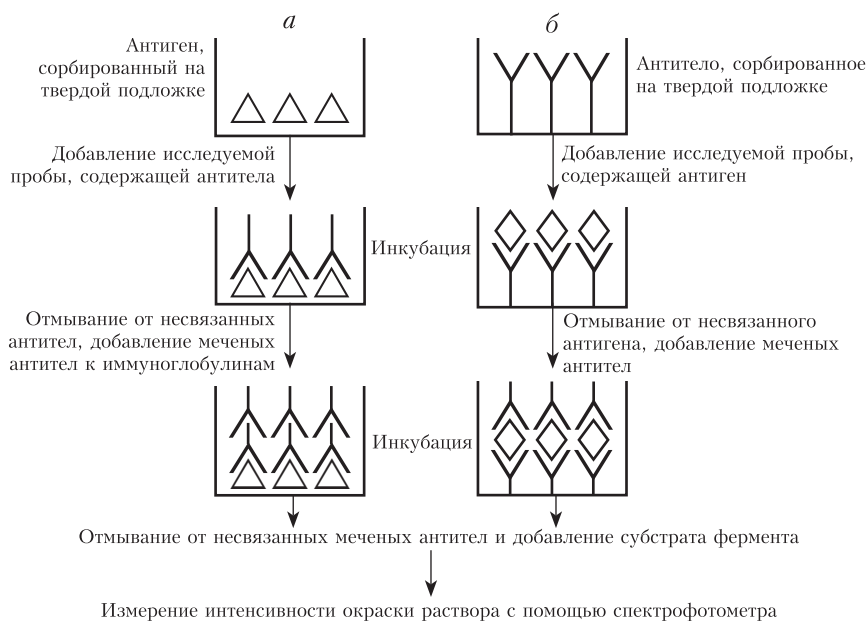


Рис. 1.1. Схема проведения твердофазного иммуноферментного анализа: а — идентификация антител; б — идентификация антигенов (по данным Г. Лолор-мл. и соавт., 2000)

Определение антител к какому-либо антигену проводят следующим образом (рис. 1.1):

1) исследуемую биологическую жидкость вносят в лунки планшета с сорбированным на них антигеном;

2) во время инкубации антитела связываются с антигеном;

3) планшет отмывают от несвязавшихся антител и добавляют антитела к иммуноглобулинам (вторые антитела), меченные ферментом;

4) планшет вновь отмывают, добавляют субстрат фермента и хромоген (вещество, меняющее окраску в процессе химической реакции);

5) под действием продукта ферментативной реакции хромоген меняет окраску: чем больше меченных ферментом вторых антител связывается с комплексами антиген — антитело, тем выше активность фермента и интенсивность окраски раствора. Концентрацию антител в пробе определяют спектрофотометрически, регистрируя оптическую плотность окрашенного раствора.

Такой же подход используется для определения антигена в пробе. В этом случае применяются планшеты с сорбированными антителами к исследуемому антигену. Меченные ферментом вторые антитела также направлены к этому антигену (см. рис. 1.1).

Многие лаборатории используют твердофазный ИФА в качестве стандартного метода определения противовирусных антител, цитокинов и иммуноглобулинов.

Непрямая иммунофлюоресценция

Непрямая иммунофлюоресценция — метод, с помощью которого можно выявить антитела к известным антигенам. Принцип метода аналогичен ИФА, однако вместо ферментной метки на вторичных антителах используется флюорохром. В качестве источника антигена обычно используют срезы тканей или культуры клеток. Для этого субстрат, перенесенный на предметное стекло, инкубируют с исследуемой пробой, например, сывороткой, а затем — с мечеными флюорохромом антителами к иммуноглобулинам. Связанные с субстратом антитела определяют

с помощью люминесцентного микроскопа.

Данный метод обычно применяется для обнаружения антиядерных антител и антител к некоторым вирусам. Хотя метод не является количественным, он достаточно чувствителен и прост.

Радиоиммунный анализ

Радиоиммунный анализ — высокочувствительный метод, позволяющий определять концентрацию исследуемых антигенов и антител. Существует несколько модификаций метода. Одна из них основана на конкурентном связывании меченого радиоактивным изотопом и немеченого антигенов с антителом. При этом известное количество антител смешивают с определенным количеством меченого антигена и исследуемой пробой с неизвестным количеством антигена. Антиген, содержащийся в пробе, и стандартный меченый антиген взаимодействуют с антителами. Таким образом, чем выше содержание немеченого антигена, тем меньшее количество меченых антигенов свяжется с антителами. Концентрацию антигена в исследуемой пробе оценивают по уровню радиоактивности иммунных комплексов (рис. 1.2).



Рис. 1.2. Схема проведения радиоиммунного анализа, основанного на конкурентном связывании меченого и немеченого антигенов с антителами: АГ* — антиген, меченный радиоактивным изотопом; АГ — антиген в исследуемой пробе; АТ — антитела к этому антигену (по данным Г. Лолор-мл. и соавт., 2000)

Данный подход может быть использован и для определения концентрации антител в пробе. В этом случае известное количество антигена смешивают с известным количеством стандартных меченых антител и исследуемой пробой, содержащей неизвестное количество антител.

Другая модификация радиоиммунного анализа основана на иммобилизации антигена или антитела на твердой подложке.

Основные недостатки метода — необходимость дорогостоящего оборудования и реактивов, а также условий для работы с радиоактивными изотопами.

Иммуногистохимический метод

Иммуногистохимический метод позволяет определить наличие разных антигенов при исследовании срезов тканей. Особенностью метода является использование вторичных антител, связанных с биотином, взаимодействующим со стрептавидином, конъюгированным с ферментной меткой, например, щелочной фосфатазой. Последующее взаимодействие нанесенного фермента и субстрата позволяет проявить окрашенный продукт иммуноферментативной реакции и с помощью иммерсионной микроскопии оценить распределение искомого антигена в клетках ткани (рис. 1.3).



Рис. 1.3. Схема проведения иммуногистохимической реакции: МонАТ — моноклональные антитела к определяемому антигену; АТ — вторичные биотинизированные антитела; ЩФ — щелочная фосфатаза

Иммуноблоттинг

Иммуноблоттинг — качественный метод, позволяющий выявлять антигены и антитела в исследуемой пробе.

Антитела с помощью этого метода обнаруживают следующим образом:

- 1) смесь известных антигенов разделяют посредством электрофореза в полиакриламидном геле и переносят на нитроцеллюлозную мембрану;
- 2) мембрану инкубируют с исследуемой пробой (например, сывороткой), а затем — с мечеными вторичными антителами. Для выявления антигенов электрофоретическому разделению подвергаются белки исследуемой пробы, которые затем

переносятся на мембрану с последующим добавлением меченых антител к известным антигенам (рис. 1.4). При положительной реакции на нитроцеллюлозной мембране появляются темные поперечные полосы, расположенные в определенных электрофоретических зонах искоемых белков.

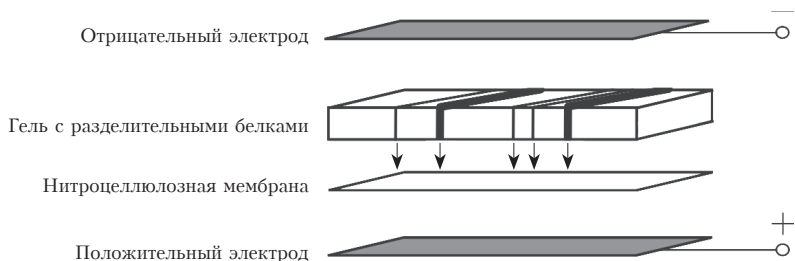


Рис. 1.4. Схема переноса белков из полиакриламидного геля на нитроцеллюлозную мембрану (по данным А.И. Карпищенко, 1999)

В настоящее время выпускаются готовые наборы для проведения иммуноблоттинга. Метод широко применяется для подтверждения результатов твердофазного ИФА при диагностике ВИЧ-инфекции, а также прионных болезней.

Иммунохроматографический метод

Иммунохроматографический метод исследования позволяет получить результат в виде визуальной оценки при погружении диагностической полоски в пробу. В реакционной системе регистрируется кинетика взаимодействия антител в процессе латеральной диффузии сначала с растворимыми, а затем — с иммобилизированным антигеном и антивидами антителами.

На одном участке пористой мембраны иммобилизируется определяемый антиген, на другой участок наносится конъюгат антител против анализита с красителем (коллоидное золото). При погружении мембраны в раствор, не содержащий детектируемого антигена, меченые антитела перемещаются с фронтом жидкости по мембране и, дойдя до зоны с иммобилизированным антигеном, концентрируются там с образованием окрашенной полосы. Если же в растворе содержится анализируемый антиген (в концентрации не ниже установленного порогового уровня),

он блокирует активные центры антител, не позволяя им связываться с антигеном в тестовой зоне и сформировать окрашенную полосу. Контролем сохранения функциональных свойств тест-полоски служит связывание избытка коллоидного конъюгата с антивидами антителами, т.е. образование окрашенной полосы в контрольной зоне (рис. 1.5).

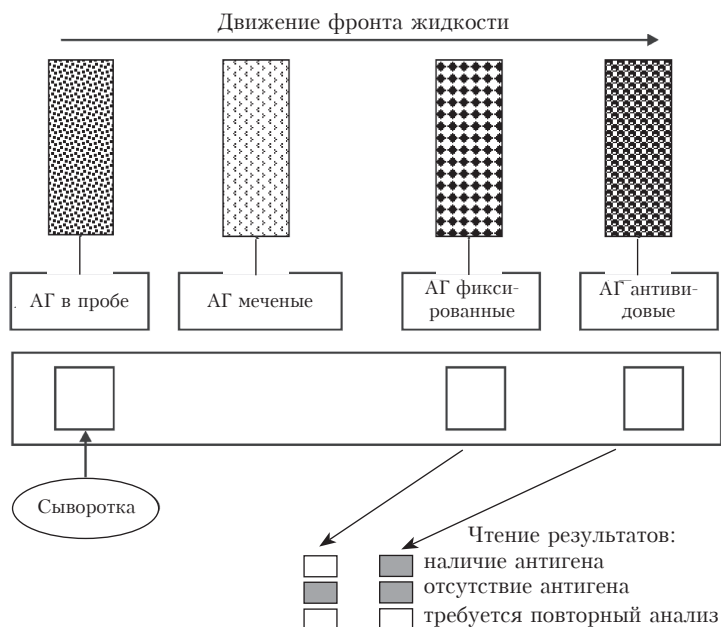


Рис. 1.5. Принцип иммунохроматографического анализа

Иммунохроматографические тесты-кассеты обладают хорошей чувствительностью, простотой методического выполнения. Детекция искомых анализов проводится без применения анализаторов и в короткий период. Например, тесты для определения тропонина Т («Roche Diagnostics», Швейцария) позволяют врачу выполнить анализ у постели больного. Широко известны диагностические полоски, предназначенные для одного анализа либо для нескольких параллельно выполняемых анализов из одной пробы биоматериала.

Проточная цитофлуориметрия

Проточная цитофлуориметрия — метод, в основе которого лежит измерение оптических свойств каждой отдельной клетки, а также флуоресценции меченных красителями моноклональных антител, связанных с избирательными клеточными структурами. Клетки по одиночке вводятся в ламинарный поток в проточной кварцевой кювете, где они пересекают сфокусированный световой пучок, не касаясь стенок кюветы. Источником света могут быть различные лазеры, ультрафиолетовая лампа или их совместное применение. Свет определенной длины волны возбуждает молекулы флуоресцирующих красителей, взаимодействовавших с различными клеточными компонентами. При этом может происходить одновременное возбуждение ряда красителей, что позволяет оценивать сразу несколько клеточных параметров. Свет, испускаемый красителями, собирается с помощью системы линз и зеркал и раскладывается на компоненты. Световые сигналы улавливаются и преобразуются в электрические импульсы фотоумножительным устройством. Далее информация обрабатывается в цифровом режиме. Величины, измеренные фотоумножителем, отображаются на гистограммах.

Современные проточные цитофлуориметры позволяют одновременно регистрировать до восьми параметров: рассеивание света на малые углы (до 10°), которое еще называют прямым светорассеиванием (forward scattering (FSC)); рассеивание света на угол 90° , так называемое боковое светорассеивание (side scattering (SSC)); интенсивность флуоресценции на разных длинах волн и др. Параметры светорассеивания позволяют проводить разделение клеток по размерам, форме, состоянию клеточной мембраны и характеристикам цитоплазмы.

С помощью проточной цитометрии можно получать самые разные данные: определять количество антигенов, ДНК, РНК, исследовать клеточный метаболизм (например, измерять внутриклеточный pH, изучать транспорт ионов кальция и кинетику ферментативных реакций).

В современной лабораторной медицине проточную цитометрию используют для иммунофенотипирования лимфоцитов (ана-

лиз субпопуляционного состава), диагностики гемобластозов, при трансплантациях костного мозга для определения содержания гемопоэтических стволовых клеток (CD34⁺), для анализа плоидности ДНК клеточного цикла, исследования экспрессии цитокинов, дифференциальной диагностики опухолей, оценки пролиферативного статуса клеток, определения HLA-антигенов, анализа апоптоза и др.

К основным преимуществам метода относятся быстрота исполнения, высокая точность и возможность одновременной оценки нескольких параметров клетки.

Молекулярно-биологические методы исследования

Полимеразная цепная реакция

Принцип метода состоит в увеличении количества копий детектируемого участка генома в миллионы раз с использованием фермента ДНК-полимеразы. Данный процесс называется амплификацией. Как показано на рис. 1.6, на первом этапе полимеразной цепной реакции (ПЦР) исследуемая двунитевая матричная ДНК переводится в одонитевую форму путем нагревания в течение нескольких минут до температуры, превышающей 95–98 °С. Дальнейшая схема проведения реакции заключается в чередовании циклов:

- гибридизации или отжига ДНК с праймерами;
- синтеза последовательностей, комплементарных матричной ДНК;
- денатурации образовавшихся двунитевых структур.

Описанную процедуру амплификации проводят с помощью автоматического термоциклера (амплификатора). Полученные ДНК-копии разделяют методом электрофореза в агарозном или полиакриламидном геле с использованием этидия бромид, образующего флюоресцирующие комплексы с ДНК.

В настоящее время разработаны и внедрены в лабораторную практику различные методы, основанные на принципе ПЦР:

- метод аллель-специфических олигонуклеотидов;
- метод ПЦР-опосредованного сайтнаправленного мутагенеза;

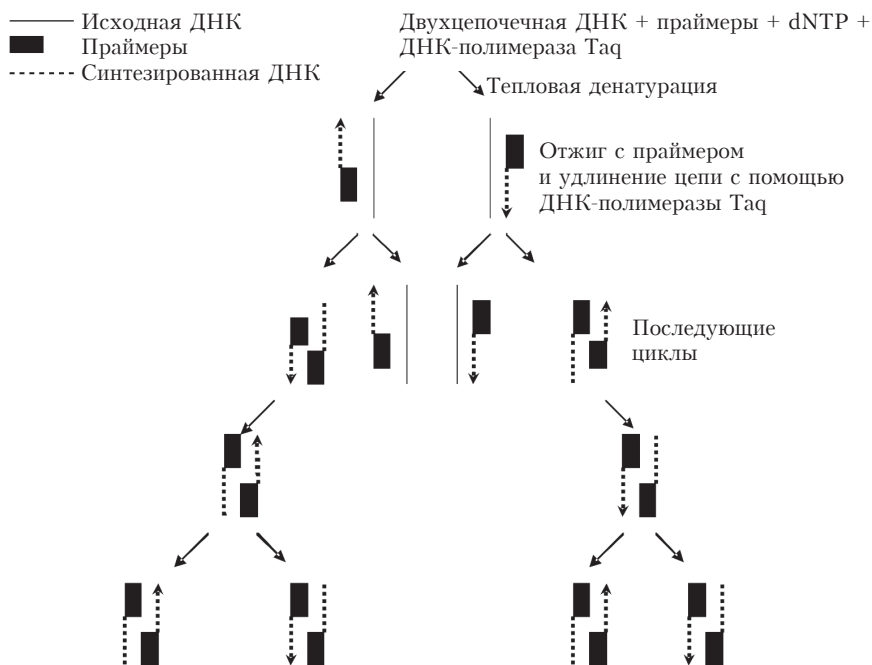


Рис. 1.6. Схема полимеразной цепной реакции (по данным С. Херрингтона и Дж. Макги, 1999)

- метод амплификации рефрактерной мутационной системы;
- метод гетеродуплексного анализа;
- метод конформационного полиморфизма одонитевой ДНК;
- метод денатурирующего градиентного гель-электрофореза;
- метод химического расщепления некомплементарных сайтов.

Широкие возможности открывает методология ПЦР в реальном времени, объединившая стадии амплификации и детекции полученных ДНК-копий. Это достигается путем применения флюоресцирующих меток, встраивающихся во время синтеза новых ДНК-последовательностей. Таким образом, количество полученных копий детектируемого участка генома пропорционально интенсивности флюоресценции реакционной среды. Регистрация результата осуществляется с помощью специального

термоциклера «Real time PCR» («BioRad Laboratory», США), имеющего модуль детекции флюоресцентного сигнала и аппарат управления реакцией.

Преимуществом ПЦР в реальном времени по сравнению с традиционной методикой является возможность полуколичественной оценки содержания ДНК-продукта. Также за счет исключения стадии электрофоретической детекции минимизируется вероятность контаминации исследуемых образцов.

С открытием ПЦР исследователи получили мощный инструмент для понимания механизмов дифференциации клеток, пренатального мониторинга наследственных заболеваний, диагностики бактериальных и вирусных инфекций, идентификации личности.

Биочиповая диагностика

Биочиповая диагностика является технологической модификацией ПЦР. В основе применения микрочипов лежит принцип быстрого определения взаимодействия тех или иных лигандов с множеством различных зондов одновременно. Собственно биологические микрочипы представляют собой ту или иную твердую подложку, на которую могут быть нанесены определенные фрагменты нуклеиновых кислот, белки, углеводы или иные молекулы-зонды. Количество различных зондов на подложке может достигать сотен тысяч, при этом чипы каждого типа строго идентичны и при существующих технологиях могут быть реплицированы в сотнях тысяч и миллионах копий.

К основным преимуществам биочиповой диагностики можно отнести высокие показатели чувствительности, специфичности и воспроизводимости, а также простоту выполнения, возможность одновременного анализа множества параметров и относительно невысокую стоимость работ.

Главным элементом биочипов является матрица ячеек (размер ячеек 10–100 мкм), каждая из которых содержит молекулярные зонды, специфичные к одной из множества биологических молекул. Общее число ячеек на чипе составляет 10^3 – 10^5 , а линейные размеры чипа — 1 см. В основе работы всех биочипов лежит принцип комплементарных взаимодействий биологических

молекул. Если последовательность оснований в одной нити ДНК (или олигонуклеотида) полностью комплементарна последовательности другой нити, то образуется стабильная совершенная двухнитчатая спираль — дуплекс. Однако присутствие даже одной неправильной пары оснований предотвращает образование дуплекса (рис. 1.7).

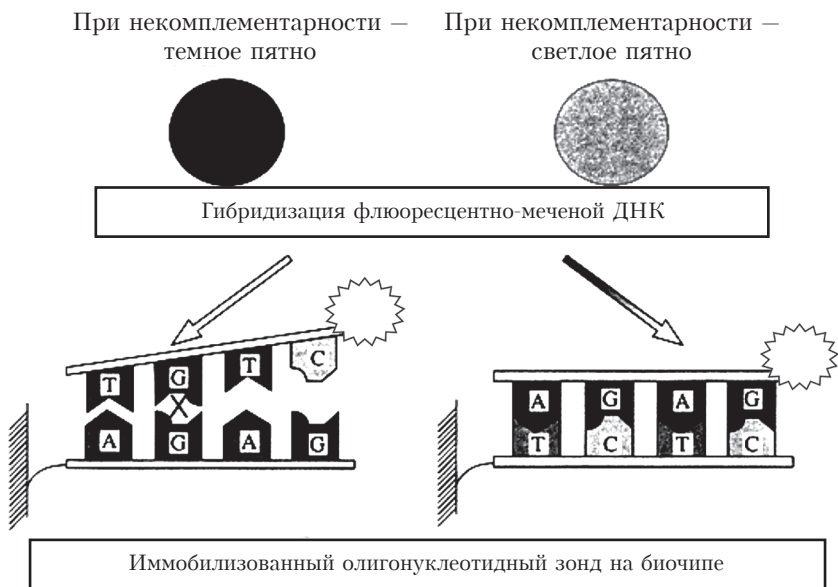


Рис. 1.7. Схема образования двойной спирали ДНК на биочипе (по данным А.Д. Мирзабекова, 2003)

Олигонуклеотид фиксирован на одном из элементов биочипа и избирательно связывает из многих флюоресцентно-меченых фрагментов ДНК только комплементарный. В результате только этот элемент начинает светиться. Это происходит благодаря высокоспецифичным взаимодействиям комплементарных пар нуклеотидов А с Т и G с С. Присутствие некомплементарной пары, например G—G, предотвращает взаимодействие и оставляет элемент микрочипа темным.

В поверхностных матричных биочипах молекулярные зонды иммобилизируются на поверхности мембран или пластинок,

в гелевых — в слое полиакриламидного геля, нанесенного на поверхность стекла, или в полусферических гидрогелевых ячейках. Анализируемые молекулы в растворе метятся с помощью флюоресцентной или радиоактивной метки; в случае анализа смеси молекул (например, ДНК дикого типа и ДНК с мутациями) каждый из компонентов метится своим флюорохромом. Интенсивность флюоресценции из ячеек измеряется с помощью сканера или люминесцентного микроскопа, передающего сигнал на компьютер. Управляющая программа контролирует эксперимент, обрабатывает данные в ходе исследования и отображает их на экране монитора (рис. 1.8). Данные о характере гибридизации также можно получать методом плазменного резонанса, масс-спектрометрии, атомной силовой микроскопии и др.

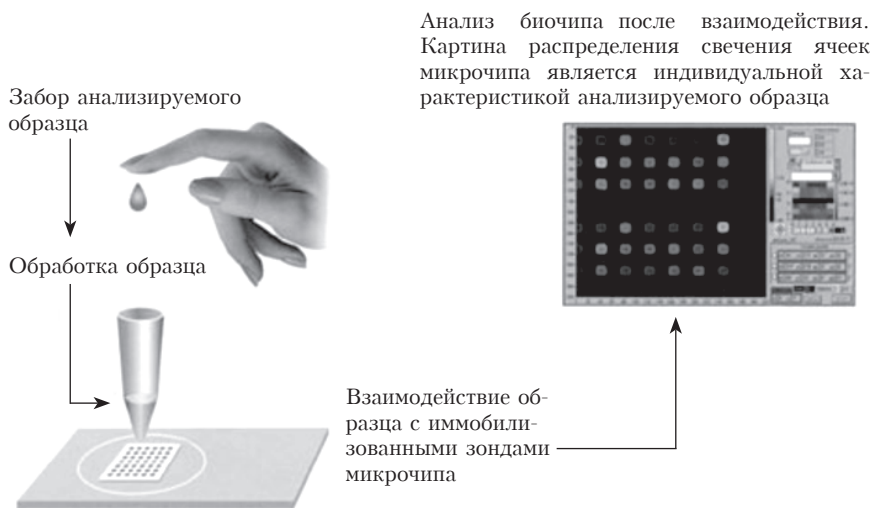


Рис. 1.8. Схема выполнения биочипового анализа (по данным О. Чаплина, 2005)

Спектр применения биологических чипов достаточно широк. Так, ДНК-чипы используются в решении диагностических задач нейродегенеративных, сердечно-сосудистых, аутоиммунных и онкологических заболеваний, а также для идентификации множества патогенов бактериальной и вирусной природы. Чипы, построенные на основе полипептидов, являются, по сути,

миниатюрными аналитическими системами для оценки иммунного статуса, выявления аллергической сенсибилизации, одновременного определения наличия в исследуемом образце сотен антител к различным инфекционным агентам. Тканевые микрочипы изготавливаются посредством нанесения на одну подложку до тысячи различных игольчатых биопсий. Приготовленные один раз чипы могут быть исследованы на взаимодействие с множеством молекулярных мишеней (ДНК, РНК, белки). Тканевые микрочипы активно используются для поиска маркеров, ассоциированных с онкологическими, аутоиммунными, сердечно-сосудистыми заболеваниями, сахарным диабетом и нейродегенеративной патологией.

Оптические методы исследования

Лазерная нефелометрия

Лазерная нефелометрия представляет собой определение концентрации взвешенных частиц и высокомолекулярных веществ в растворе, основанное на оценке интенсивности рассеивания света, проходящего через этот раствор. Явление светорассеивания возникает при условии превышения размера частиц, встречаемых на пути светового потока, длины волны электромагнитного излучения. На основании измерения интенсивности светорассеивания определяются концентрация и размеры частиц, находящихся в суспензии.

Нефелометрия может быть использована для определения концентрации антигенов, поскольку при добавлении к ним антител образуются иммунные комплексы, рассеивающие проходящий свет. Нефелометрия позволяет с высокой точностью определить концентрацию иммуноглобулинов (Ig)G и его подклассов, IgA, IgM, C3, C4, фактора В, С-реактивного белка и некоторых других сывороточных белков. Этот метод подходит для идентификации белков в низкой концентрации, например IgE, уровень которого в сыворотке не превышает 1 мкг/мл. В настоящее время многие лаборатории используют нефелометрию в качестве стандартного метода количественного определения иммуноглобулинов.

Микроскопия

Микроскопия используется для исследования морфологии клеток организма и патогенов бактериальной природы. Микроскопические исследования можно выполнять с помощью светового, фазово-контрастного, темнопольного, люминесцентного, электронного и других видов микроскопов.

Световой микроскоп является обязательным прибором любой диагностической лаборатории и позволяет изучать объекты в проходящем свете. Фазово-контрастная и темнопольная микроскопии представляют собой модификации световой и используются в основном для бактериологических исследований.

Люминесцентная микроскопия основана на способности многих веществ биологического происхождения и флюоресцентных красителей светиться под действием на них коротковолнового падающего света. Этот вид микроскопии используется для детекции результатов диагностических исследований с применением флюоресцирующих меток, например, при проведении иммунофлюоресцентного анализа.

С созданием электронного микроскопа исследователи получили возможность увеличивать объекты в 1–2 млн раз и изучать структуру клеток на макромолекулярном и субклеточном уровнях. На современном этапе электронную микроскопию используют для оценки изменений плазматической мембраны клетки и внутриклеточных структур с целью установления патогномического признака отдельных видов нозологий (серповидно-клеточная анемия, талассемия и др.).

Сканирующие зондовые микроскопы предназначены для изучения объектов различной природы с разрешением, позволяющим визуализировать отдельные атомы и молекулы. Принцип действия этих приборов заключается в осуществляемом пьезо-керамическими сканерами перемещении сканирующего зонда относительно образца как в плоскости, так и по вертикали. В оптической микроскопии ближнего поля сканирование производится тонким светопроводом и регистрируется свет, проходящий через образец. В атомно-силовом микроскопе зондом является сверхтонкая игла, расположенная на конце упругой балки

(кантилевера), а регистрируется величина изгиба балки в процессе взаимодействия с поверхностью образца.

Атомно-силовой микроскоп позволяет исследовать биологические объекты в их естественной среде или в физиологическом растворе, не проводя трудоемких и длительных процедуры подготовки образцов к исследованию, связанных с фиксацией, обезвоживанием и напылением проводящего слоя. Последовательное сканирование одной и той же области поверхности дает возможность изучать динамику биологических и физико-химических процессов, например движение клетки или рост кристаллов из жидкой фазы.

Автоматизация лабораторной техники

Устойчивым направлением технологического прогресса в лабораторной медицине является создание средств автоматизации лабораторного анализа. При этом уровень автоматизации различен:

- автоматизация отдельных элементов аналитического процесса (дозаторы, измерительные устройства, компьютеры и т.д.);
- автоматизированные системы для исследования определенных показателей (автоматизированные биохимические системы, проточные автоматические цитофлюориметры, автоматизированные микроскопы с системами анализа изображения);
- автоматические многоцелевые анализаторы, включающие комплекс аналитических систем (биохимических, иммунохимических, коагулологических) и средства обработки информации.

Многочисленные аналитические приборы и устройства, вошедшие в практику лабораторий, имеют достаточно мощные встроенные процессоры или внешние персональные компьютеры со значительными объемами памяти и скоростью обработки сигнала, с программным обеспечением, поддерживающим удобный для аналитика диалог. Компьютер в составе подобных анализаторов осуществляет не только функции управления аналитическим процессом (пробоподготовка, идентификация проб, последовательность и объемы дозирования, обработка и преобразование физических сигналов в искомые величины, калибровка и контроль качества аналитической процедуры, выдача

результатов), но и нередко интеллектуальную обработку (в пределах генерируемой анализатором информации) баз данных.

На этой основе стала реальной организация полностью автоматизированных лабораторий, в которых контейнеры с пробамми биоматериалов движутся по конвейеру и согласно командам в виде штрихового кода или в электронных микрочипах подвергаются всем необходимым этапам пробоподготовки и анализа. Полученные в автоматических анализаторах данные биохимических, гематологических, коагулологических, иммунологических и других исследований обрабатываются в лабораторной информационной системе и поступают в связанный с ней процессор единой больничной информационной системы, откуда могут быть переданы в клиническое отделение.

Процесс автоматизации позволяет:

- 1) увеличить рентабельность лаборатории;
- 2) повысить производительность лаборатории;
- 3) устранить влияние человеческого фактора на процесс исследования;
- 4) сократить срок получения результатов исследований;
- 5) максимально снизить количество рутинных операций, производимых персоналом лаборатории.

Таким образом, научно-технический прогресс уверенно вошел и в область лабораторной аналитики. Технологические новации оказывают все возрастающее влияние на сферу лабораторной медицины. В свою очередь, клиническая медицина получила возможность широкого использования современных лабораторных технологий лабораторной медицины для диагностики, прогноза течения болезней и оценки эффективности проводимого лечения.

Контрольные вопросы и задания

1. Общий принцип иммунологических методов исследования.
2. Какую роль играет проточная цитометрия в решении клинико-диагностических задач?
3. Принцип иммунохроматографического анализа.
4. Схема выполнения полимеразной цепной реакции.
5. Перечислите преимущества ПЦР в реальном времени по сравнению с традиционной методикой.

6. Назовите виды биочиповых диагностикумов.
7. Спектр применения биочиповой диагностики.
8. Принцип и область применения лазерной нефелометрии.
9. Дайте характеристику основных видов микроскопии.
10. Назовите уровни автоматизации лабораторной техники.

Литература

1. Волощук С.Г., Старовойтова Т.А., Кутвицкий В.А. и др. Системы видеоцифрового анализа для лабораторной диагностики. Аппаратура и программное обеспечение // Лаб. медицина. 2002. № 5. С. 82–87.
2. Гаранина Е.Н. Качество лабораторного анализа (факторы, критерии и методы оценки). М.: Лабинформ, 1997. 192 с.
3. Козинец Г.И., Погорелов В.М., Шмаров Д.А. и др. Клетки крови: современные технологии их анализа. М.: «Триада-Фарм», 2002. 200 с.
4. Колупаев В.Е. Преимущества метода ПЦР в реальном времени // Лаб. медицина. 2002. № 5. С. 110–112.
5. Лолор Г., Фишер Т., Адельман Д. Клиническая иммунология и аллергология. М.: Практика, 2000. 446 с.
6. Медицинские лабораторные технологии. Справочник / Под ред. А.И. Карпищенко. СПб.: Интермедика, 1999. Т. 2. 648 с.
7. Медицинская лабораторная диагностика (программы и алгоритмы). Справочник / Под ред. А.И. Карпищенко. СПб.: Интермедика, 2001. 544 с.
8. Меньшиков В.В. Современные возможности клинической лабораторной аналитики // Клинич. лаб. диагностика. 2000. № 3. С. 25–38.
9. Мирзабеков А.Д. Биочипы в биологии и медицине XXI века // Вестн. РАН. 2003. Т. 73. № 5. С. 412–420.
10. Светашев М.Г., Водорезов Д.П., Иванец Н.В. и др. Преимущества внедрения в КДЛ автоматизации полного цикла // Справочник заведующего КДЛ. 2007. № 1. С. 29–36.
11. Стандартизация технологий в клинической цитологии. Методические материалы / Под ред. В.Н. Богатырева, В.В. Меньшикова. М.: Лабора, 2005. 100 с.
12. Чаплин О. Уникальные возможности микрочипов // В мире науки. 2005. № 7. С. 18–26.

Глава 2

ОСОБЕННОСТИ ПРЕАНАЛИТИЧЕСКОГО ЭТАПА ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

В результатах лабораторного анализа клиницист всегда искал и продолжает искать надежное подкрепление предполагаемой диагностической концепции, особенно если они признаются специфическими для определенной нозологической формы. Сегодня в распоряжении врача имеется огромный арсенал аналитических лабораторных методов, которые позволяют лучше понять возникающие в организме изменения, в том числе нередко внешне не проявляющиеся, а следовательно, практически недоступные при традиционном физическом обследовании. Современному врачу необходимо уметь выбирать из огромного множества методов исследования наиболее адекватные в каждой конкретной ситуации, а также проводить правильный анализ полученных данных. Использование методов лабораторного исследования помогает клиницисту ответить на основные вопросы медицинской практики: сформулировать диагноз, оценить активность процесса и функциональное состояние организма, а также дать прогноз исхода заболевания и выбрать рациональный способ лечения.

Обобщенное лабораторное исследование условно состоит из трех этапов: преаналитического, аналитического и постаналитического. Аналитическая стадия представляет собой непосредственный процесс проведения лабораторного исследования с целью определения конкретного значения состава или свойства исследуемого биологического материала, выполняется с помощью специального оборудования и реагентов. Постаналитический этап включает доведение полученного лабораторией результата до лечащего врача и адекватную интерпретацию последним

значения определяемого показателя в организме пациента в общей клинической картине и с учетом всех влияющих факторов.

Роль клинициста чрезвычайно важна до начала лабораторного исследования — на преаналитическом этапе. Преаналитический этап включает комплекс мероприятий, выполняемых от момента назначения врачом лабораторных исследований до проведения аналитического измерения. Для получения корректных результатов организм пациента должен быть специально подготовлен, так как на многие показатели функции органов влияют и патологические процессы, протекающие в организме пациента, и физиологические (физическая нагрузка, положение тела и др.), а также режим питания и проводимое лечение. При этом основная задача клинического персонала состоит в информировании обследуемого о применяемых диагностических мероприятиях, создании условий для минимизации влияния всех значимых факторов и правильном выполнении сбора биоматериала. Важно, чтобы клиницисты и лаборанты действовали согласованно, обменивались необходимой информацией, единообразно учитывали возможные источники преаналитических ошибок.

Непатологические факторы преаналитического этапа, способные влиять на результат лабораторного исследования, можно разделить на четыре группы (рис. 2.1).

Меры для предотвращения отклоняющего влияния перечисленных факторов на правильность лабораторного результата зависят от особенностей каждого из них.

Биологическая группа факторов имеет объективный характер и должна приниматься во внимание лечащим врачом при назначении лабораторного исследования. Постоянные биологические факторы необходимо учитывать при интерпретации полученных результатов. Например, концентрации креатина, креатинина, активность креатинкиназы пропорциональны объему мышечной массы, результаты исследования клиренса веществ зависят от массы тела и площади его поверхности. Кроме того, в различные фазы менструального цикла у женщин имеют место изменения концентрации гормонов, потеря железа.

При беременности происходит повышение экскреции глюкозы, меди, концентрации церулоплазмينا и триглицеридов,

трансферрина, креатинина, мочевой кислоты; увеличивается активность щелочной фосфатазы, особенно в третьем триместре.

Факторы, влияние которых необходимо учитывать при интерпретации результатов лабораторных исследований	
→	<p>Биологические факторы:</p> <ul style="list-style-type: none"> — постоянные (этническая принадлежность, пол, возраст, беременность, биологические ритмы, особенности среды обитания); — изменчивые (диета, физическая активность, масса тела, курение, употребление алкоголя)
→	<p>Ятрогенные факторы:</p> <ul style="list-style-type: none"> — диагностические процедуры; — оперативные вмешательства; — различные лечебные процедуры; — прием лекарств
→	<p>Взятие материала:</p> <ul style="list-style-type: none"> — способ и качество взятия материала; — время взятия; — положение тела; — место взятия; — выбор пробирок, антикоагулянтов, стабилизаторов, сепарирующих гелей; — способ идентификации проб отдельных пациентов
→	<p>Доставка и хранение материала:</p> <ul style="list-style-type: none"> — срок от момента забора материала до его анализа; — воздействие факторов внешней среды (температура, состав воздуха); — механические воздействия; — особенности хранения проб в лаборатории; — процедуры первичной обработки (смешивание, центрифугирование, охлаждение, замораживание)

Рис. 2.1. Преаналитические факторы (по данным В.В. Меньшикова, 1999)

С возрастом так же наблюдается изменение концентраций различных аналитов. Референтные пределы некоторых лабораторных показателей у детей, взрослых и пожилых лиц значительно отличаются.

Влияние суточных колебаний велико для экскреции с мочой электролитов, гормонов и др. (табл. 2.1).

Т а б л и ц а 2.1

Суточные ритмы содержания аналитов в крови и моче
(по данным В.В. Меньшикова, 1999)

Аналит	Наибольшие отклонения в течение суток, %	Период максимального содержания в течение суток
Адренокортикотропный гормон	200	Утро
Норадреналин	120	
Железо	100	
Пролактин	100	
Альдостерон	80	
Калий в моче	80	
Кортизол	80	
Натрий в моче	80	
Неорганический фосфор	80	
Тестостерон	50	
Гемоглобин	50	
Гематокрит	50	
Белок	20	
Билирубин	20	
Лейкоциты крови	20	
Тироксин	20	
Соматотропин	400	Вечер
Креатинин	100	
Миоглобин	70	
Мочевина	50	
Тиреотропный гормон	50	
Кислая фосфатаза	20	

Другая группа влияний биологической природы должна как учитываться, так и устраняться, поскольку они способны существенно сказываться на результатах. Так, даже умеренная физическая нагрузка повышает содержание глюкозы, инсулина, лактата, мочевой кислоты, а также активность аспаратаминотрансферазы, лактатдегидрогеназы, креатинкиназы и альдолазы. При длительном строгом постельном режиме и ограничении физической активности повышается экскреция с мочой норадреналина, ионов кальция и хлора, фосфатов, аммиака,

в сыворотке крови увеличивается активность щелочной фосфатазы.

Психологические нагрузки и стресс значительно влияют на биохимические показатели и через гормональную дисрегуляцию изменяют концентрацию других компонентов, вызывая, например, увеличение в сыворотке крови уровня глюкозы, фибриногена, альбумина, свободных жирных кислот.

Прием пищи и алкоголя повышает содержание в крови глюкозы, холестерина, триглицеридов (табл. 2.2). Характер изменений констант зависит от диеты — углеводной, белковой, жировой, бессолевой и т.д.

Т а б л и ц а 2.2

**Острые и хронические эффекты употребления алкоголя
на клинико-химические анализы (по данным В.В. Меньшикова, 1999)**

Эффекты	Аналит	Изменения содержания в крови, %
Острые	Остеокальцин	–50
	Пролактин	–40
	Кортизол	–30
	Холестерин	–10
	Триглицериды	+10
	Альдостерон	+150
Хронические	Липопротеины низкой плотности	–10
	Средний объем эритроцитов	+10
	Глюкоза	+10
	Холестерин	+15
	Триглицериды	+20
	Кортизол	+30
	Аланинаминотрансфераза	+40
	Эстрадиол	+40
	Адреналин	+120
	Норадреналин	+160
	Аспартатаминотрансфераза	+260
	γ-Глутаминтрансфераза	+1000

Существенное влияние на организм пациента оказывают различные ятрогенные факторы, т.е. назначенные врачом диагностические и лечебные процедуры.

К числу ятрогенных факторов относятся:

1) диагностические процедуры:

- пальпация, пункция, биопсия;
- функциональные тесты;

- физические нагрузки, эргометрия;
- эндоскопия;
- сцинтиграфия;
- введение контрастных веществ;
- 2) оперативные вмешательства;
- 3) другие лечебные манипуляции:
 - вливания и переливания;
 - диализ;
 - ионизирующее облучение;
- 4) лекарства.

Разнообразие современного рынка лекарств и их применение пациентом в достаточно большом ассортименте создают значительные трудности для обеспечения правильности лабораторных результатов. Лекарства существенно влияют на результаты лабораторных исследований различным образом: интерферируют в используемых аналитических реакциях, связывают транспортные белки, действуют через метаболизм в печени и почках, резорбцию в кишечнике и т.д.

Различают два вида лекарственной интерференции — клиническую, обусловленную побочными эффектами лекарственного вещества в организме пациента, и химическую, возникающую в процессе анализа вследствие взаимодействия лекарства или его метаболита с реагентами (табл. 2.3, 2.4).

Таблица 2.3

Механизмы интерференции лекарств (по данным В.В. Меньшикова, 1999)

Вид интерференции	Механизм	Лекарство	Аналит	Направленность изменений
Биологическое влияние <i>in vivo</i>	Индукция ферментов в печени	Фенитоин	γ-Глутамин-трансфераза	Повышение
	Торможение ферментов в печени	Аллопуринол	Мочевая кислота	Снижение
		Циклофосфамид	Холинэстераза	Снижение
	Повышение связывания с белками	Пероральные контрацептивы	Церулоплазмин	Повышение
	Конкуренция с эндогенными компонентами за глюкуронизацию	Новоблоин	Билирубин неконъюгированный	Повышение

О к о н ч а н и е т а б л . 2.3

Вид интерференции	Механизм	Лекарство	Аналит	Направленность изменений
Биологическое влияние <i>in vivo</i>	Цитотоксический эффект на ткань печени	Бигуаниды	Лактат	Повышение
	Цитотоксический эффект на ткань почки	Цисплатин Гентамицин	Креатинин Аланинамнотрансфераза	Повышение
Химическая и физическая интерференция <i>in vitro</i>	Образование атипичных гемоглобинов	Салицилаты	Гликилизированный гемоглобин	Повышение
	Химическая реакция с реактивами	Цефалатин	Креатинин	Повышение
		Витамин С	Мочевая кислота	Повышение

Т а б л и ц а 2.4

Направленность изменения лабораторных тестов на фоне трансфузий (по данным В.В. Меньшикова, 1999)

Вещество	Аналит	Изменения
Декстран	Тромбиновое время	Снижение (до 5 с)
	Фактор Виллебранда	Снижение
	Мочевина	Снижение
Гамма-глобулин	Серологические исследования при вирусных и бактериальных инфекциях	Ложноположительные результаты
Глюкоза	Глюкоза	Повышение
	Фосфор, калий	Снижение
	Амилаза, билирубин	Снижение (до 15%, особенно у новорожденных)
Цитрат (переливание крови)	Коагуляционные тесты	Повышение
	рН крови	Снижение
Фруктоза	Мочевая кислота	Повышение

Взятие биологического материала — процедура, в результате которой биологический материал переходит из состояния *in vivo* в состояние *in vitro*. К данному этапу предъявляется ряд требований, которые следует четко выполнять.

1. Способ и качество взятия материала (проводится в соответствии с рекомендациями, представленными в справочниках и руководствах).

2. Натощак (через 12 ч после последнего приема пищи).

3. Время взятия с 7 до 9 ч утра после периода физического покоя.

4. Учет влияния инфузионных растворов.

5. При взятии материала пациент находится в положении лежа или сидя.

6. Соблюдение стерильных условий.

7. Сдавление сосудов от наложения жгута (манжеты) при взятии крови должно быть минимальным и не превышать 1 мин.

8. Прием лекарств и проведение трансфузий исключаются до взятия биоматериала, если они даются не по жизненным показаниям.

9. Забор материала производится одноразовыми стерильными инструментами в чистую посуду с необходимыми стабилизаторами и маркируется.

В большинстве случаев забор биологического материала производится вне лаборатории: в палате лечебного отделения стационара, в процедурном кабинете, дома у больного. Для разных видов лабораторных исследований и видов биологических материалов существуют очень жесткие требования к условиям хранения и транспортировки. Нарушение этих условий приводит к большим аналитическим ошибкам или к полной непригодности полученного биологического материала для дальнейших исследований.

Таким образом, биологический материал, взятый у пациента, проходит большой путь до биопрепарата, который собственно и исследуется в аналитическом процессе. Ошибки, допущенные на преаналитическом этапе, могут существенно повлиять на конечный результат лабораторного исследования. Основные данные о возможных источниках преаналитических ошибок приведены в табл. 2.5.

Таблица 2.5

Перечень влияния преаналитических факторов на измерение отдельных аналитов (по данным Б. Фридрихского и соавт., 1999)

Аналит	Исследуемый материал	Период стабильности в сыворотке или плазме			Примечание
		–20 °C	4–8 °C	20–25 °C	
Адренокортикотропный гормон	Плазма	6 нед	Не стабилен	Не стабилен	Следует использовать пробирки с ЭДТА или гепарином; влияют биоритмы, стресс, положение тела

Продолжение табл. 2.5

Аналит	Исследуемый материал	Период стабильности в сыворотке или плазме			Примечание
		–20 °С	4–8 °С	20–25 °С	
Аланин-аминотрансфераза	Сыворотка крови	2 нед	7 сут	3 сут	Следует избегать гемолиза; влияют возраст, масса тела, прием алкоголя
Аспартат-аминотрансфераза	Сыворотка крови	12 нед	7 сут	4 сут	Влияют физическая нагрузка, возраст, гемолиз, прием алкоголя
Альбумин	Ликвор	1 год	2 мес	1 сут	Возможно замораживание; перед нефелометрическими исследованиями замораживать нельзя
	Сыворотка крови	3 мес	3 мес	3 сут	Не замораживать перед нефелометрическим исследованием; влияют гемолиз, цитрат, ЭДТА, мутность сыворотки, вертикальное положение тела
	Моча	6 мес	1 мес	7 сут	При сборе суточной мочи адсорбируется на стенках посуды; влияет физическая нагрузка
α -Амилаза	Сыворотка крови	1 год	7 сут	7 сут	Возможно исследование в гепаринизированной плазме; избегать примесей ЭДТА, цитрата, слюны, пота
	Моча	3 нед	10 сут	2 сут	Для сбора следует использовать пластиковую посуду без консервантов
Антитела к вирусам	Сыворотка крови	1 год	3 сут	4 ч	Необходимо кровь стабилизировать ЭДТА; мешает гемолиз; необходимо беречься от инфицирования
Аполипопротеины	Сыворотка крови	6 мес	3 сут	1 сут	Взятие пробы после 12 ч голодания; влияют положение тела, эстрогены, беременность
Общий белок	Ликвор	1 год	6 сут	1 сут	Возможно замораживание; мешают липемия, гемолиз
	Сыворотка крови	2 года	4 нед	6 сут	Влияют венозостаз, положение тела, физическая нагрузка, беременность
	Моча	1 мес	7 сут	1 сут	Влияют примесь эякулята, гемоглобина, физическая нагрузка, беременность

Продолжение табл. 2.5

Аналит	Исследуемый материал	Период стабильности в сыворотке или плазме			Примечание
		–20 °С	4–8 °С	20–25 °С	
Глюкоза	Ликвор	3 мес	3 сут	5 ч	Возможно замораживание; влияет бактериальная загрязненность
	Сыворотка крови	7 сут	7 сут	1 сут	Забор крови следует осуществлять с антигепаринизированными стабилизаторами; возможность хранения пробы при предварительном осаждении белков
	Моча	2 сут	2 ч	2 ч	Определение в отдельных порциях мочи
Гомоцистеин	Сыворотка крови	4 года	4 нед	4 сут	Влияют протеолиз, гемолиз, питание, возраст; забор крови со стабилизатором NaF
Дигоксин	Сыворотка крови	6 мес	3 мес	2 нед	Оптимально забор крови выполнять через 8–24 ч от момента приема препарата; влияют гемолиз, сепарирующие гели
Иммуноглобулин G	Сыворотка крови	6 мес	3 мес	3 мес	Влияют гемолиз, возраст, пол
Инсулин	Сыворотка крови	6 мес	1 сут	4 ч	Влияют гемолиз, диета
Креатинин	Сыворотка крови	3 мес	7 сут	7 сут	Влияют гемолиз, кетоны, гепарин, фториды, белковая диета, высота над уровнем моря, пол, возраст
Магний	Сыворотка крови	1 год	3 сут	3 сут	Влияют венозостаз, гемолиз, день менструального цикла, прием алкоголя, беременность
Натрий	Плазма	1 год	2 нед	2 нед	Забор цельной крови проводится в капилляры с титрованным гепарином лития
Опухолевые маркеры	Сыворотка крови	3 мес	30 сут	7 сут	Влияет гемолиз, беременность, фаза менструального цикла
С-реактивный белок	Сыворотка крови	2 год	8 сут	3 сут	Влияют физические нагрузки, диета, положение тела, возраст, беременность
Прогестерон	Сыворотка крови	1 год	3 сут	1 сут	Влияют возраст, пол, беременность, биоритмы, мешает сепарирующий гель

О к о н ч а н и е т а б л . 2.5

Аналит	Исследуемый материал	Период стабильности в сыворотке или плазме			Примечание
		–20 °С	4–8 °С	20–25 °С	
Ревматоидный фактор	Сыворотка крови	1 мес	3 сут	1 сут	Быстрое отделение форменных элементов; нельзя использовать плазму
Соматотропин	Сыворотка крови	3 мес	8 сут	1 сут	Влияют ЭДТА, гепарин, форменные элементы крови, возраст, физические нагрузки, циркадные ритмы, голодание
Тиреотропный гормон	Сыворотка крови	3 мес	3 сут	1 сут	Отделение форменных элементов крови не позднее 4 ч после забора; влияют циркадные ритмы
Тропонин Т	Сыворотка крови	3 мес	1 сут	1 сут	Возможно замораживание; неспецифическое повышение уровня у некоторых больных с патологией почек
Общий холестерин	Сыворотка крови	3 мес	7 сут	7 сут	Взятие пробы после 12 ч голодания; влияют положение тела, венозостаз, возраст, пол, диета, фаза менструального цикла; однократное определение не показано
Цинк	Сыворотка крови	1 год	2 нед	1 нед	Быстрое отделение форменных элементов крови; следует использовать специальные пробирки из пластмассы; влияют гемолиз, тромбоцитоз, пол, беременность, циркадные ритмы
	Моча	1 год	7 сут	3 сут	Определять следует в суточной порции мочи, сбор материала в посуду из пластмассы
Щелочная фосфатаза	Сыворотка крови	2 мес	7 сут	7 сут	Влияют ЭДТА, цитрат, прием пищи
Эритропоэтин	Сыворотка крови	—	—	2 нед	Влияют гемолиз, циркадные ритмы, физические нагрузки, беременность, высота над уровнем моря; допустимо замораживание
Этанол	Моча	—	30 сут	—	Необходимо транспортировать в плотно закрытых пробирках
	Сыворотка крови	—	6 мес	2 нед	Следует транспортировать в плотно закрытых пробирках; влияют изопропанол, этиленгликоль

Согласно многочисленным исследованиям, частота ошибок в лабораторной медицине на 70–90% связана с преаналитической стадией. Неправильная подготовка больного, нарушения процедуры взятия материала, упущения при доставке биопробы в лабораторию, халатность при хранении и подготовке проб могут не только привести к невозможности определить истинное значение аналитов, но и стать причиной ошибочного диагноза. Поэтому клиницистам и лабораторным специалистам необходимо тесно взаимодействовать и строго соблюдать все требования преаналитического этапа диагностики.

Контрольные вопросы и задания

1. Дайте общую характеристику основных этапов лабораторного исследования.
2. Какова роль клинического персонала на преаналитическом этапе лабораторного анализа?
3. Назовите факторы, влияние которых необходимо учитывать при интерпретации результатов лабораторных исследований.
4. Механизм изменения исследуемых аналитов при психологических нагрузках и стрессе.
5. Отклоняющее действие употребления алкоголя на лабораторные показатели.
6. Приведите примеры ятрогенных факторов.
7. Назовите механизмы и виды интерференции лекарственных веществ.
8. Какие требования предъявляются к процедуре получения биологического материала?
9. Что входит в подготовку пациента к исследованию показателей липидного обмена?
10. Какие факторы влияют на параметры гормонального статуса?

Литература

1. *Гаранина Е.Н.* Качество лабораторного анализа (факторы, критерии и методы оценки). М.: Лабинформ, 1997. 192 с.

2. *Медицинская лабораторная диагностика (программы и алгоритмы)*. Справочник / Под ред. А.И. Карпищенко. СПб.: Интермедика, 2001. 544 с.
3. *Меньшиков В.В.* Внелабораторные причины ошибочных результатов лабораторных исследований // *Клинич. лаб. диагностика*. 1999. № 1. С. 21–34.
4. *Обеспечение качества лабораторных исследований. Преаналитический этап* / Под ред. В.В. Меньшикова. М., 1999. 310 с.
5. *Справочник по диагностическим тестам* / Под ред. В.С. Камышникова. М.: «Медпресс-информ», 2004. 464 с.
6. *Фридецкий Б., Кратохвила Й., Горак И. и др.* Преаналитический этап лабораторного анализа: Руководство / Пер. М.Е. Почтарь. М.: Губернская медицина, 1999. 67 с.
7. *Хиггинс К.* Расшифровка клинических лабораторных анализов. М.: БИНОМ; Лаборатория знаний, 2006. 376 с.
8. *Цыганенко А.Я., Жуков В.И., Мясоедов В.В., Завгородний И.В.* Клиническая биохимия. М.: Триада-Х, 2002. 504 с.
9. *Энциклопедия клинических лабораторных тестов* / Под ред. Н. Тица. М.: Лабинформ, 1997. 960 с.

Глава 3

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА АНЕМИЙ. ЭРИТРОЦИТОЗЫ

Определение понятия «анемия». Критерии и методы диагностики анемий

Анемия — клинико-гематологический синдром, характеризующийся уменьшением содержания гемоглобина и количества эритроцитов в единице объема крови. В ряде случаев в крови могут выявляться патологические формы эритроцитов (табл. 3.3, рис. 3.14, 3.15).

К общим клиническим проявлениям анемического синдрома относятся слабость, усталость, сонливость, головокружение, шум в ушах, одышка, головные боли. Тяжелая анемия вызывает анорексию, раздражительность, нарушения сна, концентрации внимания, у женщин — нарушение менструального цикла, у мужчин — импотенцию, утрату либидо. Для анемии характерны бледность кожи, видимых слизистых оболочек, ногтевого ложа, а также тахикардия, усиление сердечного толчка, систолический шум на верхушке сердца. Наряду с общими (неспецифическими) признаками анемического синдрома, которые являются следствием развивающейся гипоксии, могут обнаруживаться специфические клинические симптомы, характерные для отдельных видов анемий в виду особенностей их патогенеза (например, желтуха и спленомегалия при анемиях, обусловленных гемолизом; извращение вкуса и обоняния, сухость кожи, ломкость волос и ногтей при железодефицитной анемии; глоссит и ахилия при B_{12} -дефицитной анемии и т.д.).

Наибольшее значение в диагностике анемий имеют клинический анализ крови (определение содержания гемоглобина, числа

и индексов эритроцитов, гематокрита, скорости оседания эритроцитов (СОЭ), подсчет общего количества лейкоцитов (ОКЛ) и лейкоцитарной формулы, ретикулоцитов, тромбоцитов, описание морфологических особенностей клеток крови), исследование костного мозга и обмена железа (рис. 3.1, 3.2).

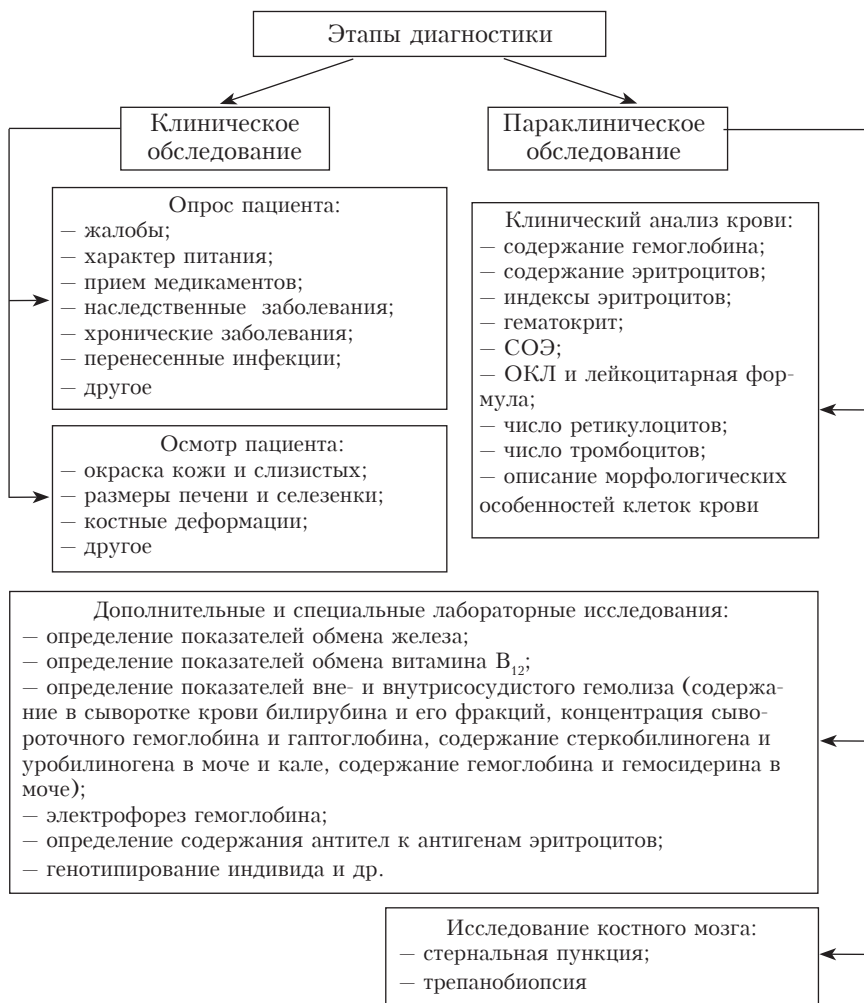


Рис. 3.1. Алгоритм диагностики анемий

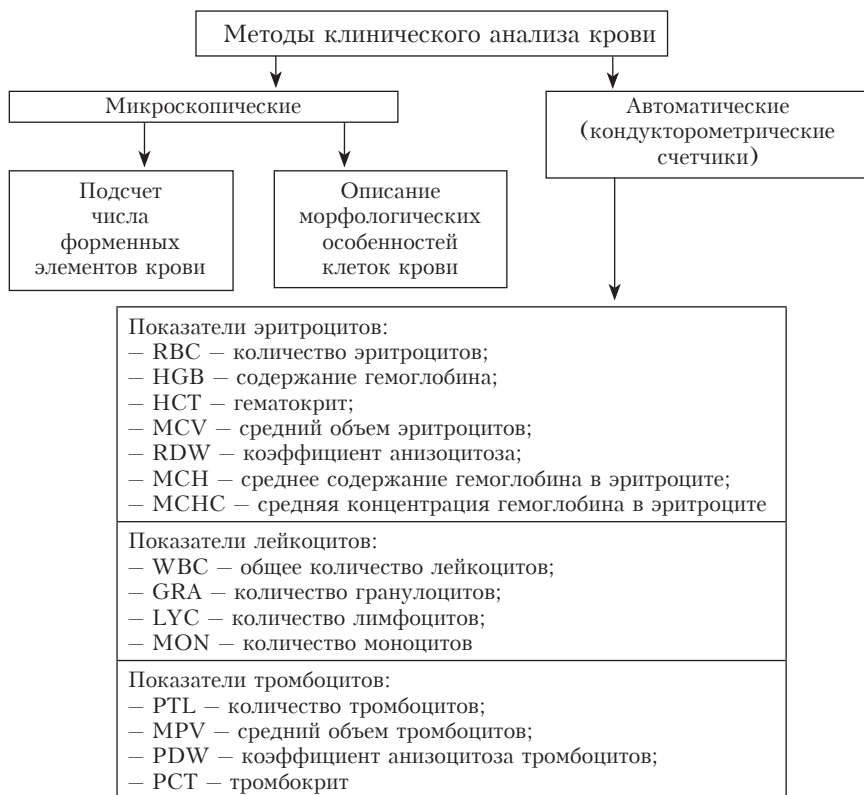


Рис. 3.2. Методы клинического анализа крови

Диагностические критерии анемий у мужчин: гемоглобин менее 130 г/л, число эритроцитов менее $4,0 \cdot 10^{12}/\text{л}$, гематокрит менее 40%; у женщин: гемоглобин менее 120 г/л, число эритроцитов менее $3,7 \cdot 10^{12}/\text{л}$, гематокрит менее 36%.

Количественные показатели периферической крови и костного мозга здорового человека приведены в табл. 3.1, 3.2.

Таблица 3.1

**Количественные показатели периферической крови здорового человека
(по данным А.А. Новика, А.Н. Богданова, 2004)**

Показатель	Мужчины	Женщины
Гемоглобин, г/л	130–160	120–140
Эритроциты, $\cdot 10^{12}/\text{л}$	4,0–5,1	3,7–4,7

Окончание табл. 3.1

Показатель		Мужчины	Женщины
Цветовой показатель		0,80–1,05	
СОЭ, мм/ч		1–10	2–15
Ретикулоциты, %		2–15	
Гематокрит, %		40–48	36–42
MCV, фл		80–95	
MCH, пг		24–33	
MCHC, г/л		30–38	
RDW, %		11,5–14,5	
Общее количество лейкоцитов, $\cdot 10^9/\text{л}$		4,0–9,0	
Базофилы, %		0–1	
Эозинофилы, %		0,5–5,0	
Нейтрофилы, %	палочкоядерные	1–5	
	сегментоядерные	43–65	
Лимфоциты, %		27–45	
Моноциты, %		4–9	
Тромбоциты, $\cdot 10^9/\text{л}$		150–350	
MPV, фл		7,4–10,4	
PDW, %		10–20	
PCT		0,15–0,40	

Таблица 3.2

**Миелограмма здорового взрослого человека и здоровых детей разного возраста
(по данным В.В. Соколова, И.А. Грибовой, 1972; Д.Г. Паписовой, 1974)**

Показатель, %		Взрослые		Дети, границы вариабельности	
		Среднее значение	Границы вариабель- ности	1 год	3 года
Недифференцированные бласты		0,6	0,1–1,1	0,9–4,1	1,3–2,7
Эритробласты		0,6	0,2–1,1	0,9–2,4	0,8–2,0
Пронормобласты		0,6	0,1–1,2		
Нормо- бласты	базофильные	3,0	1,4–4,6	0,7–3,5	1,4–3,4
	полихроматофильные	12,9	8,9–16,9	7,7–10,7	7,5–11,2
	оксифильные	3,2	0,8–5,6	4,9–8,2	4,5–10,2
<i>Всего эритрокариоцитов</i>		<i>20,3</i>	<i>11,4–29,4</i>	<i>14,2–24,8</i>	<i>14,2–26,8</i>
Миелобласты		1,0	0,2–1,7	1,5–2,7	0,8–3,3
Промиелоциты		2,5	1,0–4,1	4,5–6,5	2,8–5,8
Нейтро- филы	миелоциты	9,6	7,0–12,2	9,1–14,5	8,5–11,9
	метамиелоциты	11,5	8,0–15,0	6,8–10,2	7,1–9,0
	палочкоядерные	18,2	12,8–23,7	17,6–20,2	14,0–25,4
	сегментоядерные	18,6	13,1–24,1	8,4–16,2	13,3–22,5
<i>Всего нейтрофилов</i>		<i>57,9</i>	<i>40,9–75,0</i>	<i>41,9–61,1</i>	<i>42,9–68,8</i>
Эозинофилы		3,2	0,5–5,8	1,8–4,5	2,8–6,4
Базофилы		0,2	0,1–0,5	0–0,1	0–0,1

О к о н ч а н и е т а б л. 3.2

Показатель, %	Взрослые		Дети, границы вариабельности	
	Среднее значение	Границы вариабель- ности	1 год	3 года
Моноциты	1,9	0,7–3,1	0–0,1	0–0,2
Лимфоциты	9,6	4,3–13,7	5,1–24,6	11,2–23,7
Плазмциты	0,9	0,1–1,8	0–0,2	0–0,3

Т а б л и ц а 3.3

Особенности морфологии эритроцитов при анемиях

Вариант патологических изменений	Морфологическая характеристика
Изменение размеров эритроцитов (анизоцитоз)	Микроциты – эритроциты диаметром менее 6,5 мкм Макроциты – эритроциты диаметром 8–9 мкм Мегалоциты – эритроциты диаметром 10 мкм и более
Изменение формы эритроцитов (пойкилоцитоз)	Акантоциты – эритроциты с неравномерно распределенными по поверхности роговидными выростами Каплевидные эритроциты Мишеневидные эритроциты – клетки с центральным расположени- ем гемоглобина в форме мишени Дегмациты – «надкусанные» эритроциты Овалоциты – клетки овальной формы Серповидные эритроциты (дрепаноциты) – клетки в форме серпа (полумесяца) Стоматоциты («улыбающиеся» эритроциты) – клетки с централь- ным просветлением в форме рта Сфероциты – эритроциты шаровидной формы Шизоциты – неправильной формы осколки разрушенных эритро- цитов диаметром 2–3 мкм Шлемовидные эритроциты – фрагменты разрушенных эритроци- тов в форме шлема Эхиноциты – эритроциты с равномерно распределенными по по- верхности клетки шиповидными выростами
Изменение ок- раски эритро- цитов (анизо- хромия)	Гипохромия – снижение плотности окраски эритроцитов Гиперхромия – интенсивная окраска эритроцитов Полихроматофилы – эритроциты серо-фиолетового цвета
Включения в эритроцитах	Базофильная зернистость (пунктация) – рассеянные в цитоплазме эритроцитов гранулы средней величины темно-синего цвета Кольца Кабо – нитевидные остатки ядерной мембраны в форме кольца или восьмерки сине-фиолетового цвета Ретикулоциты – молодые эритроциты с остатками цитоплазматиче- ских органелл, выявляющихся при суправитальной окраске в виде нитей и зерен сине-голубого цвета (зернисто-сетчатой субстанции)

О к о н ч а н и е т а б л. 3.3

Вариант патологических изменений	Морфологическая характеристика
Включения в эритроцитах	Тельца Гейнца — преципитаты гемоглобина округлой формы синего цвета, выявляющиеся в эритроцитах при суправитальной окраске Тельца Жолли — остатки ядерного хроматина округлой формы сине-фиолетового цвета

От истинной анемии следует отличать гидремию — увеличение объема плазмы вследствие «разжижения» крови (при беременности, микседеме, почечной недостаточности с олиго- и анурией, застойной спленомегалии и др.), сопровождающееся относительным снижением концентрации гемоглобина и количества эритроцитов в единице объема крови.

Анемия может не выявляться при состояниях, связанных со сгущением крови вследствие дегидратации организма (при длительной диарее, многократной рвоте, стенозе привратника, ожоговой болезни и др.). В этом случае за счет уменьшения жидкой части крови концентрация гемоглобина и масса эритроцитов в крови могут оставаться в пределах нормы (скрытая анемия).

Классификация анемий

Патогенетическая классификация анемий

I. Анемии, связанные с кровопотерей (постгеморрагические).

1. Острые постгеморрагические анемии.
2. Хронические постгеморрагические анемии.

II. Анемии, связанные с нарушенным кровообразованием.

1. Анемии, связанные с нарушением образования гемоглобина:

- анемии, связанные с дефицитом железа (железодефицитные анемии);
- анемии, связанные с нарушением синтеза или утилизации порфиринов (siderобластные анемии).

2. Анемии, связанные с нарушением синтеза ДНК (мегалобластные анемии):

- анемии, связанные с дефицитом витамина В₁₂;

— анемии, связанные с дефицитом фолиевой кислоты (фолиево-дефицитная анемия).

3. Гипо- и апластические анемии:

— наследственные формы;

— приобретенные формы.

4. Анемии, ассоциированные с заболеваниями внутренних органов:

— анемии при эндокринных заболеваниях;

— анемии при заболеваниях печени;

— анемии при заболеваниях почек.

5. Анемии хронических заболеваний:

— анемии при хронических инфекционных заболеваниях;

— анемии при системных заболеваниях соединительной ткани;

— анемии при опухолевых заболеваниях.

6. Анемии при опухолевых и метастатических поражениях костного мозга.

III. Анемии, связанные с повышенным кроворазрушением (гемолитические).

1. Наследственные гемолитические анемии:

а) наследственные гемолитические анемии, связанные с нарушением структуры мембраны эритроцитов (мембранопатии):

— микросфероцитоз,

— овалоцитоз,

— стоматоцитоз,

— акантоцитоз;

б) наследственные гемолитические анемии, связанные с нарушением активности ферментов эритроцитов (энзимопатии):

— гемолитические анемии, связанные с недостаточностью активности ферментов гликолиза,

— гемолитические анемии, связанные с недостаточностью активности ферментов пентозофосфатного шунта,

— гемолитические анемии, связанные с недостаточностью активности ферментов глутатионовой системы;

в) наследственные гемолитические анемии, связанные с нарушением синтеза или структуры гемоглобина (гемоглобинопатии):

— гемолитические анемии, связанные с нарушением синтеза полипептидных цепей глобина,

— гемолитические анемии, обусловленные носительством аномальных гемоглобинов.

2. Приобретенные гемолитические анемии:

а) гемолитические анемии, связанные с воздействием анти-тел:

- изоиммунные,
- трансиммунные,
- гетероиммунные,
- аутоиммунные;

б) гемолитические анемии, связанные с изменением структуры мембраны эритроцитов, обусловленным соматической мутацией;

в) гемолитические анемии, связанные с повреждением мембраны эритроцитов: механическими, физическими и химическими факторами;

г) гемолитические анемии, обусловленные недостатком витаминов (витамина Е и др.);

д) гемолитические анемии, обусловленные разрушением эритроцитов паразитами (малярийным плазмодием и др.).

Классификации анемий по степени тяжести и индексам эритроцитов представлены в табл. 3.4, 3.5 соответственно.

Т а б л и ц а 3.4

Классификация анемий по степени тяжести (Гольдберг Е.Д., 1989)

Степень тяжести	Количество гемоглобина, г/л	Количество эритроцитов, $\cdot 10^{12}/л$
Легкая	Не менее 100	Не менее 3,0
Средняя	66–100	3,0–2,0
Тяжелая	Менее 66	Менее 2,0

Т а б л и ц а 3.5

Классификация анемий по эритроцитарным индексам (по данным В.В. Долгова и соавт. (2001) с изменениями)

Индекс	Гипохромные микроцитарные	Нормохромные нормоцитарные	Нормо- и гиперхромные макроцитарные
Цветовой показатель	<0,8	В пределах нормы (0,8–1,05)	>1,05
MCV, фл	<80	В пределах нормы (80–95)	>95

Окончание табл. 3.5

Индекс	Гипохромные микроцитарные	Нормохромные нормоцитарные	Нормо- и гиперхромные макроцитарные
MCH, пг	<24	В пределах нормы (24–33)	>33
MCHC, г/л	<30	В пределах нормы (30–38)	В пределах нормы
RDW, %	В пределах нормы или >14,5	В пределах нормы (11,5–14,5)	>14,5

Морфологическая классификация анемий

- По цветовому показателю (ЦП):
 - нормохромные (ЦП от 0,8 до 1,05);
 - гипохромные (ЦП менее 0,8);
 - гиперхромные (ЦП более 1,05).
- По величине среднего диаметра эритроцитов (СДЭ):
 - нормоцитарные (СДЭ от 7,2 до 8,0 мкм);
 - микроцитарные (СДЭ менее 7,2 мкм);
 - макроцитарные (СДЭ от 8,1 до 9,5 мкм);
 - мегалоцитарные (СДЭ более 9,5 мкм).
- По типу кроветворения:
 - нормобластические:

эритробласт → пронормобласт → нормобласт базофильный → нормобласт полихроматофильный → нормобласт оксифильный → эритроцит;
 - мегалобластические:

промегалобласт → мегалобласт базофильный → мегалобласт полихроматофильный → мегалобласт оксифильный → мегалоцит.
- По способности костного мозга к регенерации:
 - регенераторные (с достаточной эритропоэтической функцией костного мозга: ретикулоцитов 11–50%);
 - гипо- и арегенераторные (с угнетением процессов эритропоэза: ретикулоцитов не более 10%);
 - гиперрегенераторные (с выраженной активацией процессов эритропоэза: ретикулоцитов более 50%, появление в крови в большом количестве эритрокариоцитов разной степени зрелости).

Нормохромные анемии

К числу нормохромных относятся *острая постгеморрагическая, наследственные и приобретенные гемолитические* (за исключением талассемии и гемолитической болезни новорожденного), *гипопластические* (апластические) анемии и анемии, *ассоциированные с заболеваниями внутренних органов* (при эндокринных заболеваниях, заболеваниях печени и почек), при которых величина цветового показателя и эритроцитарных индексов (МСН, МСНС) сохраняются в пределах нормальных значений (см. табл. 3.5). Алгоритм диагностики нормохромных анемий отражен на рис. 3.3.

Острая постгеморрагическая анемия

Острая постгеморрагическая анемия (ОПГА) — состояние, развивающееся при скоротечной потере значительного объема крови в результате наружного или внутреннего кровотечения. Причинами острой кровопотери могут быть нарушения целостности сосудистой стенки при травмах, желудочные, кишечные, маточные кровотечения и др.

В основе ОПГА лежат гиповолемия, вследствие которой могут развиваться коллапс и шок, и уменьшение массы циркулирующих эритроцитов, приводящее к нарушению процессов оксигенации тканей организма.

Кровопотеря сопровождается последовательным включением защитно-приспособительных механизмов, направленных на восстановление объема циркулирующей крови.

Выделяют следующие фазы компенсаторных реакций: сосудисто-рефлекторную, гидремическую, костно-мозговую.

Сосудисто-рефлекторная фаза длится 8–12 ч от начала кровопотери и характеризуется спазмом периферических сосудов вследствие выброса надпочечниками катехоламинов, что приводит к уменьшению объема сосудистого русла (централизация кровообращения) и способствует сохранению кровотока в жизненно важных органах (головной и спинной мозг, сердце, надпочечники). Вследствие активации ренин-ангиотензин-альдостероновой системы усиливаются процессы реабсорбции натрия и воды в проксимальных канальцах почек, что сопровождается

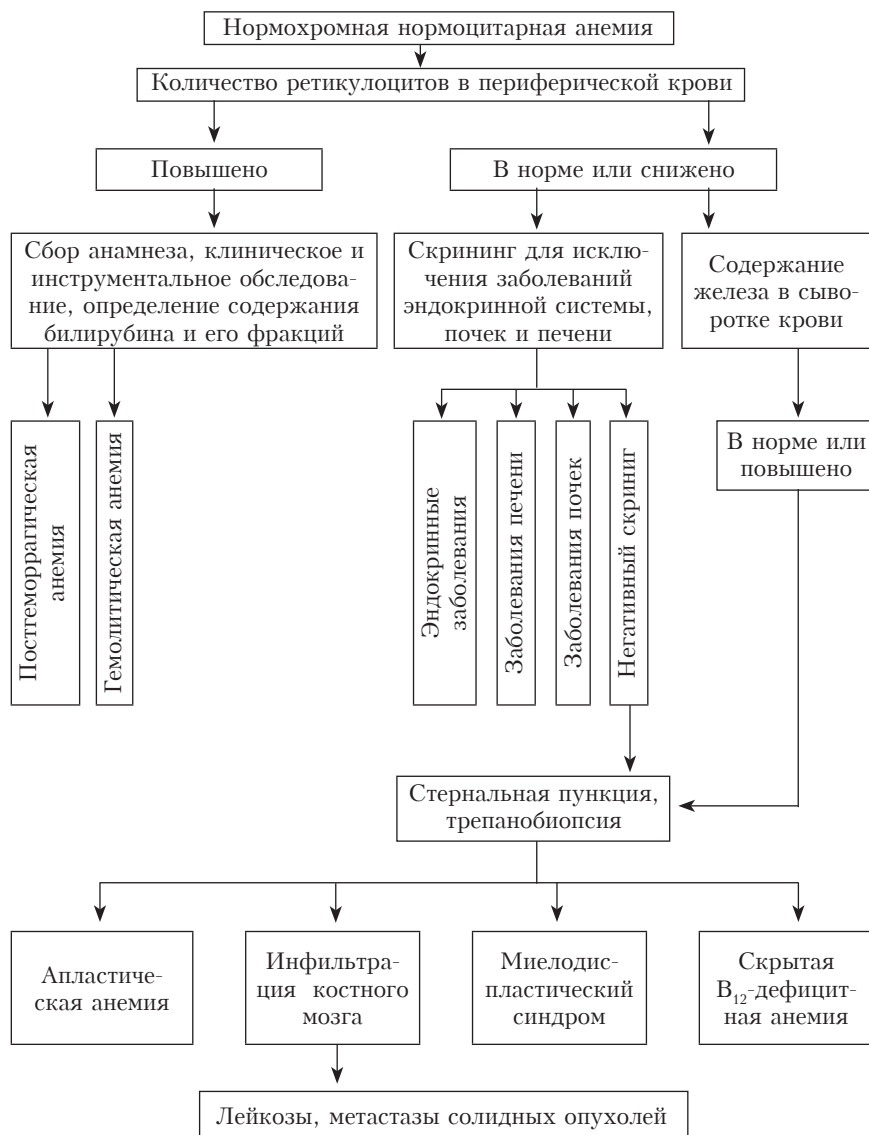


Рис. 3.3. Алгоритм диагностики нормохромных нормоцитарных анемий (по данным А.А. Новика, А.Н. Богданова, 2004)

снижением диуреза и задержкой воды в организме. В этот период в результате равнозначной потери плазмы крови и форменных элементов, компенсаторного поступления депонированной крови в сосудистое русло содержание эритроцитов и гемоглобина в единице объема крови и величина гематокрита остаются близкими к исходным (скрытая анемия). Ранними признаками острой кровопотери являются лейкопения и тромбоцитопения. В ряде случаев возможно увеличение числа лейкоцитов более $9 \cdot 10^9/\text{л}$.

Гидремическая фаза развивается на 1–2-е сут после кровопотери. Проявляется мобилизацией тканевой жидкости и поступлением ее в кровяное русло, что приводит к восстановлению объема плазмы. «Разбавление» крови сопровождается прогрессирующим снижением количества эритроцитов и гемоглобина в единице объема крови. Анемия носит нормохромный нормоцитарный характер.

Однако при потере более 30% объема циркулирующей крови поступление интерстициальной жидкости в кровоток не может в полной мере компенсировать объем потерянной вследствие кровотечения плазмы. Такая кровопотеря несовместима с жизнью. Кроме того, при больших кровопотерях длительный спазм периферических сосудов может стать причиной микроциркуляторных нарушений.

Костно-мозговая фаза развивается на 4–5-е сут после кровопотери. Характеризуется усилением процессов эритропоэза в костном мозге в результате гиперпродукции эритропоэтина клетками юкстагломерулярного аппарата почек в ответ на гипоксию. Критерием активации кроветворения служит повышение содержания в крови молодых форм эритроцитов (ретикулоцитов, полихроматофилов), что сопровождается изменением размеров последних (макроцитозом) и формы клеток (пойкилоцитозом) (рис. 3.16). Возможно также появление в крови эритроцитов с базофильной зернистостью, иногда — единичных нормобластов. Вследствие усиления гемопоэтической функции костного мозга развивается умеренный лейкоцитоз (до $12 \cdot 10^9/\text{л}$) со сдвигом влево до метамиелоцитов (реже до миелоцитов), увеличивается количество тромбоцитов (до $500 \cdot 10^9/\text{л}$).

и более). В костном мозге лейкоэритробластическое отношение может достигать 1 : 1 (при норме 2 : 1—4 : 1).

Восстановление массы эритроцитов происходит в течение 1—2 мес в зависимости от объема кровопотери. При этом расходуется запасный фонд железа в организме, что может стать причиной дефицита железа, определяющего микроцитоз и гипохромию эритроцитов.

Гемолитические анемии

Гемолитические анемии представляют собой группу анемий, обусловленных сокращением продолжительности жизни эритроцитов вследствие гемолиза.

Гемолиз — разрушение эритроцитов, проявляющееся диффузией гемоглобина из эритроцитов. Выделяют внутрисосудистый и внутриклеточный гемолиз (табл. 3.6).

Внутриклеточный гемолиз — разрушение клетками-киллерами (макрофагами, гранулоцитами, натуральными киллерами) «маркированных» IgG эритроцитов в селезенке, печени и костном мозге.

Причинами патологического внутриклеточного гемолиза являются:

- наследственные нарушения структуры мембраны эритроцитов (мембранопатии);
- наследственные нарушения активности ферментов эритроцитов (энзимопатии);
- наследственные нарушения синтеза или структуры гемоглобина (гемоглобинопатии);
- несовместимость по антигенам системы АВ0 или Rh между матерью и плодом, при гемотрансфузиях.

Внутрисосудистый гемолиз — комплементозависимый лизис «маркированных» IgM (реже IgG) эритроцитов в кровотоке.

Выделяют следующие причины патологического внутрисосудистого гемолиза: механические, физические (при действии ионизирующей радиации, высокой температуры), токсические, инфекционные и иммунные повреждения мембраны.

В процессе внутрисосудистого гемолиза гемоглобин, высвобождающийся из эритроцитов в кровь (гемоглобинемия), связывается с белком плазмы гаптоглобином, который не проникает

через гломерулярный фильтр, что обеспечивает защиту почечных канальцев от повреждения и препятствует потере железа с мочой. Далее комплекс гемоглобина с гаптоглобином захватывается клетками ретикулоэндотелиальной системы (РЭС), в которых осуществляется отщепление от гемоглобина глобина и железа (при внутриклеточном гемолизе диффузия и распад гемоглобина происходят непосредственно в клетках РЭС без участия плазменного гаптоглобина). Высвобождающийся гем под действием гемоксигеназы превращается в биливердин, который под влиянием цитоплазматической биливердинредуктазы обращается в неконъюгированный (непрямой) билирубин. Последний выделяется из макрофагов, соединяется в кровотоке с альбумином и доставляется в печень, где под действием уридиндифосфатглюкуронилтрансферазы связывается с глюкуроновой кислотой с образованием конъюгированного (прямого) билирубина в виде моно- и диглюкуронидов. Прямой билирубин выделяется из желчи в кишечник, где восстанавливается под влиянием кишечной микрофлоры до уробилиногена и других соединений (мезобилирубиногена и мезобилирубина). Уробилиноген в двенадцатиперстной кишке всасывается энтероцитами, возвращается по воротной вене в печень и окисляется до дипироллов. Мезобилирубиноген и мезобилирубин превращаются под влиянием микрофлоры толстой кишки в стеркобилиноген, который выделяется с калом; часть стеркобилиногена из толстой кишки всасывается в кровь и через геморроидальные вены попадает в нижнюю полую вену, затем в почки и мочу.

Гемоглобинсвязывающая способность гаптоглобина составляет 100 мг% (100 мг в 100 мл крови). При выраженном гемолизе, превышающем резервную гемоглобинсвязывающую емкость гаптоглобина, свободный гемоглобин поступает в почки. В почечных канальцах осуществляется реабсорбция гемоглобина с дальнейшим его окислением в эпителии канальцев до гемосидерина. Нагруженные гемосидерином клетки слущиваются и выделяются с мочой (гемосидеринурия). При гемоглобинемии свыше 125–135 мг% реабсорбция гемоглобина оказывается недостаточной, что приводит к появлению в моче свободного гемоглобина (гемоглобинурии).

Т а б л и ц а 3.6

Дифференциальные признаки внутрисосудистого и внутриклеточного гемолиза (по данным В.В. Долгова и соавт., 2001)

Признак гемолиза	Вид гемолиза	
	Внутрисосудистый	Внутриклеточный
Локализация гемолиза	Сосуды	Ретикулоэндотелиальная система
Локализация гемосидероза	Канальцы почек	Селезенка, печень, костный мозг
Желтушность кожи и слизистых	Умеренная	Выраженная
Увеличение размеров печени и селезенки	Незначительное	Значительное
Лабораторные признаки	Анемия нормохромная Ретикулоцитоз Гиперсидеремия Гиперплазия эритроидного ростка в костном мозге	
	Гемоглобинемия Гемоглобинурия Гемосидеринурия	Гипербилирубинемия Повышенное содержание стеркобилиногена в кале Появление уробилиногена в моче

Н а с л е д с т в е н н ы е г е м о л и т и ч е с к и е а н е м и и

Наследственные гемолитические анемии, связанные с нарушением структуры мембраны эритроцитов

Наследственный микросфероцитоз

Наследственный микросфероцитоз (анемия Минковского—Шоффара) — аутосомно-доминантная патология.

Патогенез. В основе развития лежит дефицит или дефект одного или нескольких белков мембраны эритроцитов (анкирина, спектрина, белка полос 3, 4.2), что обуславливает повышение проницаемости эритроцитов для ионов натрия и воды, увеличение объема. Форма эритроцитов становится шаровидной (сфероциты). В результате сфероцитоза снижается деформируемость и эластичность мембраны клеток. При прохождении через узкие капилляры в синусах селезенки эритроциты травмируются. Утрата части клеточной оболочки приводит к уменьшению размеров эритроцитов, образованию микросфероцитов (рис. 3.16). В результате прогрессирующей фрагментации мембраны после двух-трех последующих прохождений через селезеночные

синусы микросфероциты подвергаются внутриклеточному гемолизу. Одной из причин сокращения продолжительности жизни микросфероцитов (до 7–14 дней) служит также истощение их ферментных ресурсов (расход аденозинтрифосфата (АТФ), глюкозы) в процессе удаления из клеток избытка воды.

Клиническая картина наследственного микросфероцитоза зависит от тяжести анемии, формы наследования (гомозиготная или гетерозиготная), периода проявлений болезни (ранний, подростковый возраст). Анемия может не выявляться длительное время в виду компенсаторной активации эритропоэза. При развитии анемии в детском возрасте у пациентов нередко обнаруживаются аномалии скелета (башенный череп, готическое небо, широкая переносица, укорочение мизинцев), аномалии зубов. При тяжелом течении болезни возможны задержка умственного развития и роста, гипогенитализм. У 50% больных течение анемии осложняется развитием желчнокаменной болезни, рецидивирующими дерматитами, изъязвлением кожи.

Анемия имеет хроническое течение, сопровождается гемолитическими кризами, возникающими при воздействии холода, эмоциональном стрессе, беременности, инфекциях. Центральное место в клинической картине занимают три ведущих симптома (триада Шоффара): желтуха, бледность кожи и слизистых, спленомегалия (у 75–80% больных). Иктеричность кожи и склер нередко может быть единственной причиной обращения к врачу. Именно к таким пациентам относится известное выражение: «Они более желтушны, чем больны».

Критерии лабораторной диагностики приведены в табл. 3.7. Характерным является увеличение средней толщины эритроцитов до 2,5–3,0 мкм и снижение величины сферического индекса (отношения диаметра эритроцита к его толщине) до 2,7 (норма 3,4–3,9). При этом MCV сохраняется нормальным.

Наследственный овалоцитоз

Наследственный овалоцитоз (овалоклеточная гемолитическая анемия) — аутосомно-доминантная патология, характеризующаяся присутствием в крови овальных эритроцитов. Выделяют гомо- и гетерозиготные формы анемии.

Патогенез. В основе развития наследственного овалоцитоза лежит патология белков мембраны эритроцитов. Наиболее характерными молекулярными дефектами при данной анемии являются мутации в α - и β -спектрине, дефицит и дисфункция протеина 4.1, гликофорина C. В результате при выходе из костного мозга вследствие контакта с белками сыворотки крови эритроциты приобретают овальную форму. Аномалия мембранных белков сопровождается сокращением продолжительности жизни эритроцитов. Разрушение последних происходит в клетках РЭС (внутриклеточный гемолиз).

Клинические проявления гомозиготной формы наследственного овалоцитоза сходны с таковыми при наследственном микросфероцитозе. Анемия характеризуется хроническим течением с гемолитическими кризами. Причинами транзиторного гемолиза могут быть вирусная, бактериальная, протозойная инфекции, дефицит витамина В₁₂, беременность.

Критерии лабораторной диагностики отражены в табл. 3.7. Диагноз наследственного овалоцитоза основывается на обнаружении в крови свыше 15% эритроцитов овальной формы при последующем подтверждении наследственной природы анемии. Количество таких клеток может достигать 40–50% при гетерозиготной форме наследования анемии и 96% — при гомозиготной.

Наследственный стоматоцитоз

Наследственный стоматоцитоз — аутосомно-доминантная анемия, характеризующаяся появлением в крови стоматоцитов — эритроцитов с центральным просветлением в форме рта (stoma — рот).

Патогенез анемии связан с дефектом белков мембраны эритроцитов (бандированного белка 7 — стоматина), что обуславливает увеличение содержания в клетках натрия и воды (иногда при одновременном понижении концентрации калия) и разрушение эритроцитов в РЭС.

Основными *клиническими проявлениями* наследственного стоматоцитоза помимо признаков гипоксии служат симптомы внутриклеточного гемолиза — желтуха, спленомегалия. Возможны аномалии скелета, аналогичные таковым при наслед-

ственном микросфероцитозе (см. выше), развитие желчнокаменной болезни.

Критерии лабораторной диагностики представлены в табл. 3.7. Диагностика анемии базируется на обнаружении стоматоцитов в мазке периферической крови, количество которых может достигать 10–50%.

Наследственный акантоцитоз

Наследственный акантоцитоз — редкая форма анемии, наследуемая по аутосомно-рецессивному типу, характеризуется наличием в крови акантоцитов — эритроцитов с роговидными выростами, придающими контурам клеток зубчатый вид. Клетки становятся похожими на листья аканта, что и определяет их название. Наследственный акантоцитоз выявляется при абеталиппротеинемии (заболевании, связанном с дефектом синтеза апопротеина В) и у больных с фенотипом McLeod (при снижении экспрессии антигена Kell на мембране эритроцитов).

В основе *патогенеза* данной формы анемии лежит нарушение структуры липидов мембраны эритроцитов, проявляющееся снижением содержания лептина и фосфатидилхолина при повышении содержания сфингомиелина, уменьшением текучести липидной фазы мембраны, изменением формы клеток, что обуславливает внутриклеточный гемолиз эритроцитов. Снижение экспрессии поверхностного Kell-антигена на эритроцитах связывают с отсутствием в клетках КХ-белка — предшественника антигена Kell.

В *клинической картине* наследственного акантоцитоза преобладают признаки внутриклеточного гемолиза (желтуха, спленомегалия), симптомы нарушений липидного обмена (пигментная ретинопатия, неврологические расстройства (нистагм, тремор, атаксическая походка)). Причиной смерти больных с акантоцитозом могут быть нарушения сердечного ритма.

Критерии лабораторной диагностики приведены в табл. 3.7. Основным морфологическим критерием служит обнаружение в крови акантоцитов, численность которых может достигать 60–70% при абеталиппротеинемии и 25–85% — у пациентов с фенотипом McLeod.

*Наследственные гемолитические анемии,
связанные с нарушением активности ферментов
эритроцитов*

**Анемия, связанная с недостаточностью
глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы**

Снижение глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ) в эритроцитах — наиболее частая причина наследственных гемолитических анемий, связанных с нарушением активности ферментов эритроцитов. Относится к категории энзимопатий, обусловленных недостаточностью ферментов пентозофосфатного цикла. Наследуется по X-сцепленному рецессивному типу. Встречается у населения разных территорий: в странах Средиземноморья (Италия, Греция), в Латинской Америке, Африке, в бывших малярийных районах Средней Азии и Закавказья. В России регистрируется у 2% населения.

Установлены следующие варианты недостаточности фермента в эритроцитах: A^+ , A^- , B^+ , B^- :

— A^+ и B^+ (европейский тип) — активность фермента составляет 90% от нормы;

— A^- (африканский тип) — активность фермента находится в пределах 10–15% от нормы;

— B^- (средиземноморский тип) — активность фермента не превышает 1% от нормы.

Патогенез. Развитие Г-6-ФДГ-дефицита сопровождается нарушением восстановления никотинамидадениндинуклеотидфосфат (НАДФ) и глутатиона в эритроцитах и, как следствие, снижением устойчивости клеток к действию активных форм кислорода, окислительной денатурацией гемоглобина и белков мембраны эритроцитов с последующим внутрисосудистым гемолизом клеток.

Клинические проявления. Анемия носит хронический характер с гемолитическими кризами, развитие которых отмечается на фоне медикаментозного лечения (при приеме сульфаниламидных, противомалярийных препаратов, аскорбиновой и наливиковой кислоты и др.), инфекционных заболеваний (грипп, сальмонеллезная инфекция, вирусный гепатит и др.), при вдыхании цветочной пыльцы бобовых растений, употреблении в

пищу конских бобов *Vicia faba* (фавизм) и других стручковых растений (фасоль, горох и т.д.). В период гемолитического криза у больных выявляются признаки внутрисосудистого гемолиза — повышение температуры тела, бледность кожных покровов, умеренная желтушность кожи и склер, головная боль, рвота, диарея. Вследствие гемоглобинурии возможно развитие острой почечной недостаточности.

Критерии лабораторной диагностики описаны в табл. 3.7. В период гемолитического криза в крови выявляются эритроциты с тельцами Гейнца (при суправитальной окраске), дегмациты — «надкусанные» эритроциты, образующиеся в результате фагоцитоза телец Гейнца клетками РЭС, а также сфероциты и шизоциты. Патогномоничным признаком Г-6-ФДГ-дефицитной анемии служит снижение активности Г-6-ФДГ в эритроцитах (вне зависимости от факта наступления гемолитического криза).

Анемия, связанная с недостаточностью пируваткиназы

Дефицит пируваткиназы — вторая по значимости причина развития наследственных гемолитических анемий, связанных с нарушением активности ферментов эритроцитов. Наиболее часто заболевание встречается в странах Северной Европы, в США и Японии. Относится к категории энзимопатий, обусловленных недостаточностью ферментов гликолиза.

Патогенез. Дефицит пируваткиназы в эритроцитах сопровождается нарушением образования АТФ и никотинамиддинуклеотида, что приводит к накоплению в клетках промежуточных продуктов гликолиза, нарушению работы АТФ-зависимых насосов и потере эритроцитами ионов К с дальнейшей дегидратацией, сморщиванием и внутриклеточным гемолизом клеток.

Клиническая картина анемии, как правило, мало выражена и характеризуется бледностью кожи, желтухой, в редких случаях — гепато- и спленомегалией. Гемолитические кризы могут быть спровоцированы тяжелой физической нагрузкой, беременностью, инфекцией и другими факторами.

Критерии лабораторной диагностики представлены в табл. 3.7.

*Наследственные гемолитические анемии,
обусловленные носительством аномальных гемоглобинов*

В эритроцитах взрослого человека основную массу гемоглобина составляет гемоглобин А (гемоглобин взрослых). Выделяют две его фракции: A_1 ($\alpha_2\beta_2$) и A_2 ($\alpha_2\delta_2$). Около 1–2% приходится на гемоглобин F ($\alpha_2\gamma_2$) (рис. 3.4).

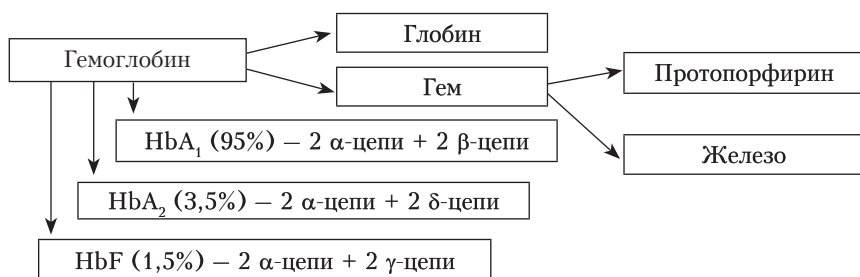


Рис. 3.4. Структура гемоглобина

Мутации в генах, ответственных за синтез гемоглобина, сопровождаются образованием аномальных гемоглобинов (HbC, HbD, HbE, HbS и др.).

Серповидно-клеточная анемия

Серповидно-клеточная анемия относится к числу наиболее частых форм гемоглобинопатий, обусловленных носительством аномальных гемоглобинов. Распространена среди жителей Индии, США, стран Африки, Средиземноморья, Ближнего и Среднего Востока.

Патогенез. В основе развития серповидно-клеточной анемии лежит спонтанная мутация и делеция гена β -глобина на хромосоме 11. HbS отличается от нормального HbA строением 4-го пептида (Вал-Гис-Лей-Тре-Про-Глу-Глу-Лиз), в 6-м положении которого происходит замещение глутаминовой кислоты на электрически нейтральный валин (Вал-Гис-Лей-Тре-Про-Вал-Глу-Лиз). Такая замена в цепи гемоглобина гидрофильной глутаминовой кислоты на гидрофобный валин приводит к смене электрического заряда и полимеризации гемоглобина в условиях гипоксии, снижению его растворимости с образованием тактоидов (веретенообразных остроконечных кристаллов), которые

растягивают оболочку эритроцитов. В результате клетки приобретают форму серпа, теряют пластичность, повышают вязкость крови, закупоривают узкие отверстия капилляров. Острыми концами серповидные эритроциты могут повреждать другие измененные и неизмененные эритроциты, что сопровождается их гибелью (внутрисосудистый гемолиз). Часть серповидных эритроцитов разрушается в селезенке. Средняя продолжительность жизни эритроцитов при серповидно-клеточной анемии не превышает 17 дней.

Поскольку серповидные эритроциты являются непригодными для жизнедеятельности малярийных плазмодиев, люди — носители аномального HbS обладают резистентностью к малярии.

Клинические проявления. Серповидно-клеточная анемия носит хронический характер. Усиление образования серповидных эритроцитов с развитием гемолитического криза отмечается при действии низких температур, при патологических состояниях, сопровождающихся ацидозом, инфекциях, дегидратации, лихорадке, голодании, заболеваниях легких, в условиях гипоксии. У гомозиготных носителей в период гемолитического криза регистрируются желтуха, спленомегалия, болезненная припухлость и язвенное поражение конечностей, нарушение зрения вследствие тромбоза сосудов. Возможны костные изменения (башенный череп, искривление позвоночника), аномалии зубов. Вследствие компенсаторной спленомегалии у ряда пациентов с серповидно-клеточной анемией в силу неизвестных причин вероятно массивная секвестрация эритроцитов в селезенке, что может стать причиной развития гипотензии и внезапного летального исхода. При гетерозиготном варианте заболевание протекает, как правило, бессимптомно.

Критерии лабораторной диагностики описаны в табл. 3.7. Основным морфологическим признаком анемии является наличие в крови эритроцитов серповидной формы (дрепаноцитов), нередко определяются также мишеневидные эритроциты. У гетерозиготных носителей для обнаружения дрепаноцитов в обычных мазках крови требуется провокация: для дезоксигенации с целью «серпления» эритроцитов перед проколом палец туго перетягивают либо наносят на него метабисульфит натрия.

Т а б л и ц а 3.7

Дифференциальные критерии лабораторной диагностики наследственных нормохромных гемолитических анемий

Показатель	Наследственный микросфероцитоз	Наследственный овалоцитоз	Наследственный стоматоцитоз	Наследственный акантоцитоз	Г-6-ФДГ-дефицитная	Связанная с дефицитом пируваткиназы	Серповидно-клеточная
Тип гемолиза	Внутриклеточный				Внутрисудистый	Внутриклеточный	Внутрисудистый
Гемоглобин, г/л	60–110	При гомозиготной форме 50–90 При гетерозиготной форме 90–120	80–120	70–120	30–100	60–100	50–100
Окраска эритроцитов	Визуальная гиперхромия	В норме				В норме	
Размер эритроцитов	Микроцитоз (5,0–5,5 мкм)	В норме				В норме	
MCV	В норме	В норме	Увеличен	В норме	В норме		
MSH	В норме или повышено	В норме				В норме	
Регенеративные формы эритроцитов	Ретикулоцитоз (в период криза до 50–400%), полихроматофилия	Ретикулоцитоз (в период криза до 150–350%)	Ретикулоцитоз (в период криза до 60–200%)	Ретикулоцитоз, полихроматофилия	Ретикулоцитоз, полихроматофилия	Ретикулоцитоз, полихроматофилия, нормобласты, эритроциты с тельцами Жолли и кольцами Кабо	

Дегенеративные формы эритроцитов	Сфероциты	Овалоциты	Стоматоциты	Акантоциты	Дегмашты, сфероциты, шизоциты, эритроциты с тельцами Гейнца	Мишеневидные эритроциты	Серповидные эритроциты (дрепаноциты), шизоциты, мишеневидные эритроциты
Осмотическая резистентность эритроцитов	Снижена (начало гемолиза в 0,6–0,65% NaCl)	В норме или снижена	Снижена	В норме или снижена	В норме	Варьирует	В норме
Количество лейкоцитов	В период криза — нейтрофильный лейкоцитоз; при гиперспленизме — лейкопения			Лейкоцитоз со сдвигом влево		В норме или снижено	Лейкоцитоз
Количество тромбоцитов	В норме или снижено (при гиперспленизме)			В норме		В норме или снижено	Повышено
Состояние кроветворения в костном мозге	Гиперплазия эритроидного роста			Гиперплазия эритроидного роста			
Содержание в сыворотке крови: — Fe — непрямого билирубина — гаптоглобина	Повышено Повышено В норме			Повышено Повышено Снижено		Повышено Повышено В норме	Повышено Повышено Снижено

О к о н ч а н и е т а б л . 3.7

Показатель	Наследственный микросфероцитоз	Наследственный овалоцитоз	Наследственный стоматоцитоз	Наследственный акантоцитоз	Г-6-ФДГ-дефицитная	Связанная с дефицитом шпругаткиназы	Серповидно-клеточная
Особенности мочи: — цвет — уробилиноген — гемоглобин — гемосидерин			Темный		Темно-красный, бурый или черный	Темный	Темно-красный, бурый или черный
			Определяется		Определяется	Определяется	Определяется
			Не определяется		Определяется	Не определяется	Определяется
			Не определяется		Определяется	Не определяется	Определяется
Особенности кала: — цвет — содержание стеркобилинагена							
Данные дополнительных методов исследования	—	—	—	При абагалипроптеринемии: снижение в сыроватке крови содержания холестерина, фосфолипидов и триглицеридов. У больных с фенотипом McLeod: антитела к антигену Kell эритроцитов	Снижение содержания Г-6-ФДГ в эритроцитах	Снижение шпругаткиназы в эритроцитах	Кристаллизация востановленного HbS с образованием серповидных эритроцитов (пробы серпинения клеток: при наложении жгута на основание пальца перед забором крови и с помощью 2%-го метабисульфита натрия); Обнаружение HbS (при электрофорезе). Образование преципитатов HbS (тест на растворимость гемоглобина)

Применяются также тесты на растворимость гемоглобина, основанные на том факте, что HbS — нерастворимое вещество и образует преципитаты, вызывающие помутнение растворов. Наиболее информативным диагностическим тестом считается электрофорез — на электрофореграммах выявляется полоска HbS, поскольку скорость его передвижения за счет валина ниже скорости движения нормального HbA.

П р и о б р е т е н н ы е г е м о л и т и ч е с к и е а н е м и и

Приобретенные гемолитические анемии, связанные с воздействием антител (иммунные)

На эритроцитах содержатся поверхностные маркерные белки (антигены), плотность которых увеличивается по мере созревания и старения клеток. Их насчитывается около 400. Они делятся на полисахаридные и белковые (табл. 3.8).

Т а б л и ц а 3.8

Характеристика поверхностных антигенов эритроцитов

Показатель	Группа антигенов	
	Полисахаридные	Белковые
Системы антигенов	ABO, MNSs, Ii, Pp	Rh, Kell, Kidd, Duffy
Свойства:		
— стимулируют выработку антител	Холодовых IgM, тепловых IgG	Тепловых IgG
— опосредуют гемолитические реакции	Острые	Отсроченные

Иммунные гемолитические анемии характеризуются образованием антител к поверхностным антигенам эритроцитов, что сопровождается внутриклеточным или внутрисосудистым эритроцитоллизом.

Классификация антиэритроцитарных антител

Среди антиэритроцитарных антител (АТ) выделяют:

I. По типу действия:

1) *агглютинины* — АТ, вызывающие склеивание эритроцитов;

2) *гемолизины* — АТ, вызывающие комплементзависимый лизис эритроцитов;

3) *опсонины* — АТ, обволакивающие поверхность чужеродных эритроцитов и облегчающие их фагоцитоз.

II. По силе эффекта:

1) *полные АТ*, вызывающие склеивание или лизис эритроцитов;

2) *неполные АТ*, изменяющие ионную проницаемость эритроцитарных мембран (в частности, для ионов Na) и активность клеточных ферментов.

III. По термочувствительности:

1) *тепловые (агглютинины и гемолизины)* — АТ, связывающиеся с эритроцитами и вызывающие *внутриклеточный* гемолиз при температуре 37 °С;

2) *холодовые (агглютинины)* — АТ, связывающиеся с эритроцитами и инициирующие внутрисосудистый гемолиз при температуре 0–5 °С;

3) *двухфазные (гемолизины)* — АТ, при низкой температуре (0–5 °С) связывающиеся с эритроцитами и фиксирующие комплемент, при температуре 37 °С активирующие комплемент с последующим внутрисосудистым лизисом эритроцитов посредством мембраноатакующего комплекса (C5–C9).

К группе нормохромных приобретенных гемолитических анемий относятся аутоиммунные гемолитические анемии (АИГА):

- с неполными тепловыми агглютинидами;
- с тепловыми гемолизинами;
- с полными холодовыми агглютинидами;
- с двухфазными гемолизинами типа Доната–Ландштейнера.

Аутоиммунная гемолитическая анемия, обусловленная тепловыми антителами

Этиология. Выделяют идиопатическую (первичную) и симптоматическую (вторичную) формы анемии.

Причины развития вторичной АИГА с тепловыми антителами (агглютинидами и гемолизинами) следующие:

- лимфопролиферативные заболевания (например, хронический лимфолейкоз);
- солидные опухоли;

- инфекции;
- хронические воспалительные заболевания (например, язвенный колит);
- коллагенозы (например, системная красная волчанка);
- аутоиммунные заболевания (сахарный диабет типа 1, тиреоидит и др.);
- прием лекарственных препаратов (при лечении большими дозами пенициллина, цефалоспоринов).

Патогенез. Образование тепловых агглютининов класса IgG (реже IgA и IgM) к эритроцитарному Rh-антигену с последующей деструкцией эритроцитов в селезенке (внутриклеточный гемолиз).

Клинические проявления характеризуются симптомами гипоксии (бледность кожных покровов, слабость, головокружение, сердцебиение) и внутриклеточного гемолиза (желтуха, сплено- и гепатомегалия, потемнение мочи и кала). Лимфаденопатия отмечается у 30% пациентов. Возможен озноб.

Критерии лабораторной диагностики приведены в табл. 3.9.

Болезнь холодовых агглютининов (холодовая гемагглютининовая болезнь)

Относится к группе АИГА с полными холодовыми агглютинаинами. Встречается преимущественно у пожилых людей, чаще у женщин.

Этиология. Выделяют первичную и вторичную болезнь холодовых агглютининов: при инфекциях (микоплазменной, цитомегаловирусной, инфекционном мононуклеозе), коллагенозах, гемобластозах (хроническом лимфолейкозе, макроглобулинемии Вальденстрема).

Патогенез. Активация комплемента IgM к I-антигену эритроцитов и лизис эритроцитов в сосудах стоп, кистей, где температура ниже, чем в других участках тела. Гемолиз прекращается при перемещении эритроцитов в теплые зоны.

Клинические проявления наиболее выражены зимой. Больные жалуются на слабость, недомогание, боль в спине, зябкость, непереносимость холода. Период гемолитического криза характеризуется синдромом Рейно — фазовыми изменениями окраски

кожных покровов пальцев конечностей с последовательным их побледнением, цианозом и гиперемией, обусловленными приступообразным спазмом артерий и артериол в ответ на холодное воздействие. В редких случаях обнаруживается спленомегалия.

Критерии лабораторной диагностики описаны в табл. 3.9. Диагностическими признаками анемии служат мгновенная агглютинация эритроцитов при проколе пальца в процессе взятия крови и обнаружение холодовых агглютининов в крови с помощью пробы Кумбса с использованием антител к комплементу и определением диапазона температур, в котором проявляется активность холодовых агглютининов (сыворотку крови смешивают с эритроцитами при температуре 4, 22 и 37 °С и отмечают температуру, при которой развивается агглютинация).

Пароксизмальная холодовая гемоглобинурия

Относится к группе АИГА с двухфазными гемолизинами типа Доната—Ландштейнера.

Этиологические варианты анемии:

1) идиопатическая (первичная);

2) вторичная:

— вследствие вирусной инфекции (корь, паротит, ветряная оспа, инфекционный мононуклеоз, грипп и др.),

— при третичном сифилисе.

Патогенез. В основе развития анемии лежит двухфазная реакция с участием IgG к Р-антигену эритроцитов (антитела Доната—Ландштейнера). В первой фазе IgG при низкой температуре (0–5 °С) связываются с эритроцитами и фиксируют комплемент, во второй фазе (при 37 °С) происходит активация комплемента с индукцией внутрисосудистого гемолиза.

Клинические проявления. Гемолитический криз развивается через несколько часов после переохлаждения при согревании больного и проявляется лихорадкой, ознобом, болями в животе и поясничной области, тошнотой, рвотой, потемнением (почернением) мочи.

Критерии лабораторной диагностики отражены в табл. 3.9. Диагностика анемии основывается на выявлении в крови боль-

ных антиэритроцитарных Р-антител типа Доната—Ландштейнера в процессе инкубации сыворотки больного с нормальными эритроцитами группы 0 (первые 30 мин при температуре 4 °С, затем 30 мин — при 37 °С).

Неиммунные приобретенные гемолитические анемии

Пароксизмальная ночная гемоглобинурия (болезнь Маркиафавы—Микели)

Относится к числу приобретенных анемий, связанных с изменением структуры мембраны эритроцитов, обусловленным соматической мутацией. Встречается преимущественно у лиц пожилого возраста.

Патогенез. Причиной лизиса эритроцитов служит соматическая мутация в стволовых кроветворных клетках риг-А-антигена, ответственного за синтез гликанфосфатидилинозитола, необходимого для связывания с эритроцитарной мембраной регуляторов комплемента — фактора ускорения распада комплемента и ингибитора реактивного лизиса, что приводит к увеличению чувствительности эритроцитов к лизису комплементом с развитием внутрисосудистого гемолиза. Гемолизу способствует ночной ацидоз. Подобная аномалия отмечается не только в эритроцитах, но также в лейкоцитах и тромбоцитах.

Клинические проявления характеризуются ночными (во время физиологического сна) эпизодами гемолиза, сопровождающимися выделением темной мочи. Кризы могут быть как спонтанными, так и индуцированными переутомлением, лекарственными препаратами, инфекциями, гемотрансфузиями. Вследствие распада эритроцитов и компенсаторной активации свертывающей системы крови возможны тромбоэмболические осложнения, проявляющиеся болями в животе (вследствие закупорки сосудов брыжейки и портальной вены конгломератами эритроцитов и агрегатами тромбоцитов), симптомами нарушений в ЦНС (в результате тромбоза церебральных вен). Могут обнаруживаться гепато- и спленомегалия за счет посттрансфузионного гемосидероза органов и застойного их полнокровия при тромбозе селезеночных и портальной вен.

Т а б л и ц а 3.9

Дифференциальные критерии лабораторной диагностики приобретенных нормохромных гемолитических анемий

Показатель	АИГА с тепловыми антителами	Болезнь холодовых агглютининов	Пароксизмальная холодовая гемоглобинурия	Пароксизмальная ночная гемоглобинурия
Тип гемолиза	Внутрисосудистый			
Гемоглобин, г/ л	50–60	Вне криза –80–100, в период криза – 50–60	Вне криза – в нор- ме, в период криза – 50–60	60
Окраска эритроцитов	В норме			
Размер эритроцитов	В норме			
MCV	В норме			
MCH	В норме			
Регенеративные формы эритроцитов	Ретикулоцитоз (более 100%, в период криза – 500–600%), по- лихроматофилия, базофильная зер- нистость, норма- лизованные эритро- циты с тель- цами Жолли	Умеренный ретикулоцитоз	Ретикулоцитоз, полицхроматофилия	Умеренный ретикулоцитоз (в период криза до 20%)
Дегенеративные формы эритроцитов	Сфероциты, шизоциты	Сфероциты, шизоциты	Шизоциты	Шизоциты
Осмотическая резистент- ность эритроцитов	В норме			
Количество лейкоцитов	В период криза лейкоцитоз со сдвигом влево	В норме	Лейкопения	Лейкопения, нейтропения, лимфоцитоз
Количество тромбоцитов	В норме	В норме	Снижено	Снижено

Состояние кроветворения в костном мозге	Активация эритропоэза, появление метабластоидных эритрокариотиков	Гиперплазия эритроидного роста		Гиперплазия эритроидного роста, со временем — нарушение созревания клеток миелопоэза
Содержание в сыворотке крови: Fe непрямого билирубина свободного гемоглобина гаптоглобина	Повышено Повышено Повышено Снижено	Повышено Повышено Повышено Снижено	Повышено Повышено Повышено Повышено	Снижено Повышено Повышено Снижено
Особенности мочи: цвет уробилиноген гемоглобин гемосидерин	Темно-красный, бурый или черный Определяется Определяется Определяется			
Особенности кала: цвет содержание стеркобилина	Темный Повышено			
Данные дополнительных методов исследования	Положительная прямая проба Кумбса при АИГА с тепловыми агглютинидами и отрицательная при АИГА с тепловыми гемолизинами	Мгновенная агглютинация эритроцитов при проколе пальца. Выявление полных ходоуных агглютининов к I-антигену эритроцитов (проба Кумбса с антителами к комплексу) в титре 1 : 1 000 и более	Выявление в сыворотке крови антигенов эритроцитов (тест Доната—Ландштейнера)	Отсутствие на эритроцитах регуляторов комплемента (при проточной цитометрии). Повышенная чувствительность эритроцитов к лизису комплексом (тест Хэма, тепловая и сахарозная пробы)

Критерии лабораторной диагностики представлены в табл. 3.9. Диагностику проводят по аномальному лизису эритроцитов в присутствии активированного комплемента (тест Хэма) либо путем проточной цитометрии по отсутствию на мембране эритроцитов регуляторов комплемента. Используют также тепловую пробу (с инкубацией крови при температуре 37 °С в течение 1–3 ч) и сахарозную пробу (к цитратной крови добавляют 10%-й раствор сахарозы в соотношении 1 : 9 с последующей инкубацией смеси в течение 30 мин).

*Гемолитические анемии, связанные
с повреждением мембраны эритроцитов*

Основным лабораторным признаком анемии служит появление в крови фрагментов и осколков эритроцитов (шлемовидные эритроциты и шизоциты) вследствие внутрисосудистого гемолиза. Могут выявляться нейтрофильный лейкоцитоз с ядерным сдвигом влево, тромбоцитопения. Локализация источника повреждения эритроцитов может быть как внутрисосудистой (при патологии кровеносных сосудов), так и внесосудистой (обызвествление и стеноз клапанов сердца, дефекты протезов клапанов сердца, повышенная нагрузка на стопы и др.).

В основе развития данного вида анемий могут лежать три группы факторов.

1. Механическое воздействие:

- при тромботической тромбоцитопенической пурпуре и гемолитико-уремическом синдроме (в основе патогенеза — повреждение эритроцитов измененными капиллярами);
- патологии сердца и крупных сосудов (неоперированные пороки сердца, искусственные клапаны сердца, коарктация аорты);
- диссеминированной карциноме;
- трансплантации органов;
- синдроме диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС);
- гемангиомах;
- генерализованных васкулитах;
- злокачественной гипертонии.

Примером анемии вследствие механического воздействия также может служить *маршевая гемоглобинурия*, которая возникает у солдат после нескольких часов ходьбы маршевым шагом. *Патогенез* связывают с механическим повреждением эритроцитов в капиллярах стоп. Основным признаком считается появление черной мочи. Анемия при сохраненной компенсаторной способности гемопоэтической ткани, как правило, не развивается.

2. *Химическое воздействие* — тяжелые металлы (свинец), гемолитические (грибные и змеиные) яды, отравление кислотами, избыточный прием алкоголя.

3. *Физическое воздействие*. Примером может служить *ожоговая анемия* в случае поражения термическим фактором более 20% поверхности тела. Анемия развивается не сразу, поскольку в первые часы ожоговой болезни в период ожогового шока отмечается сгущение крови. Снижение концентрации гемоглобина и числа эритроцитов в крови регистрируется в период компенсаторной гидремии. В основе *патогенеза* анемии в раннем посттравматическом периоде выделяют два механизма: повреждение эритроцитов высокой температурой и денатурация белков эритроцитов с последующей выработкой специфических ожоговых аутоантител.

Лизис эритроцитов сопровождается желтухой (она может быть также следствием развивающейся печеночной недостаточности), гемоглобинемией и гемоглобинурией.

Гемолитические анемии, обусловленные разрушением эритроцитов паразитами

Патогенез заболевания связывают со способностью паразитов к прямой инвазии и разрушению эритроцитов.

Наиболее частой причиной развития данного вида анемии служит малярия. Инвазия в эритроциты малярийного плазмодия сопровождается внутрисосудистым распадом эритроцитов в процессе эритроцитарной шизогонии. При хроническом течении малярии лизис эритроцитов может локализоваться также в клетках РЭС.

Клинически анемия проявляется фебрильными пароксизмами каждые 72 ч, спленомегалией.

Критерии лабораторной диагностики. Нормохромная нормоцитарная анемия, анизо- и пойкилоцитоз, ретикулоцитоз.

Количество лейкоцитов может быть нормальным или сниженным. Регистрируется тромбоцитопения. Диагноз анемии основывается на обнаружении паразитов в мазках крови или ДНК возбудителя в крови с помощью полимеразной цепной реакции.

Гипопластические и апластические анемии

Гипопластические и апластические анемии относятся к числу анемий, обусловленных депрессией костно-мозгового кроветворения и периферической панцитопенией без признаков гемобластоза и метаплазии.

Причины развития и классификация гипо- и апластических анемий представлены в табл. 3.10 и на рис. 3.5 соответственно.

Т а б л и ц а 3.10

Причины развития гипо- и апластических анемий

Экзогенные факторы	Эндогенные факторы
<p>Физические (ионизирующая радиация, высокочастотные токи, вибрация).</p> <p>Механические (травмы).</p> <p>Химические:</p> <ul style="list-style-type: none"> — промышленные яды (бензил, бензол и их производные, пары ртути, сернистый газ, краски, лаки и т.д.); — лекарства (антибиотики, сульфаниламиды, препараты мышьяка, противотуберкулезные, противосудорожные и антидиабетические средства и т.д.). <p>Биологические (вирусы, бактерии, патогенные грибы)</p>	<p>Генетические нарушения.</p> <p>Недостаток питательных веществ при голодании, расстройствах пищеварения (нарушения аппетита, секреторной деятельности желудка, процессов полостного пищеварения и всасывания в кишечнике и др.).</p> <p>Эндокринные расстройства:</p> <ul style="list-style-type: none"> — в физиологических условиях (при стрессе, гиперэстрогемии на фоне беременности и др.); — в условиях патологии (при дисфункции щитовидной железы, яичников, тимуса и др.). <p>Системные заболевания соединительной ткани (ревматоидный артрит, системная красная волчанка и др.)</p>

В основе *патогенеза* гипо- и апластических анемий лежат следующие механизмы.

1. Непосредственное повреждение кроветворных клеток-предшественниц (ККП):

- снижение количества ККП;
- качественный дефект ККП с нарушением их пролиферации и дифференцировки;
- стимуляция апоптоза ККП.

2. Патология и нарушение гемопоэзконтролирующей функции гемопоэзиндуцирующего микроокружения.

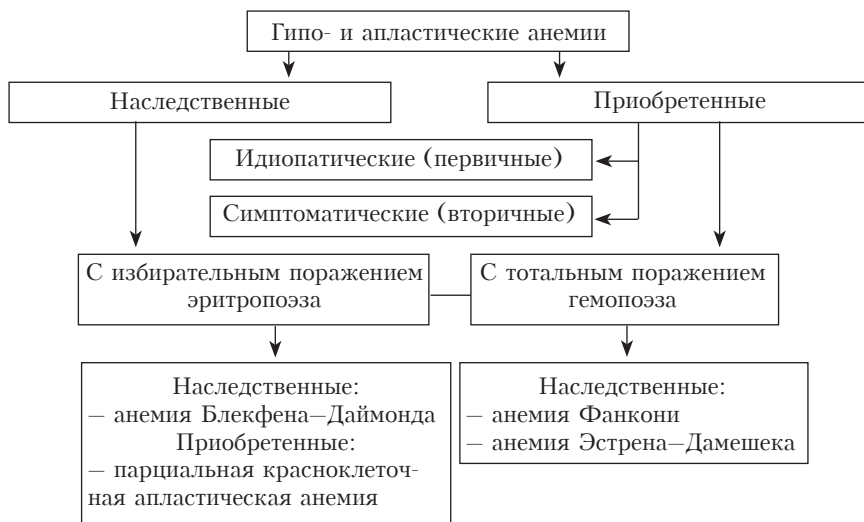


Рис. 3.5. Классификация гипо- и апластических анемий

3. Иммунные механизмы угнетения кроветворения:

- увеличение секреции интерлейкина-2 и угнетение продукции интерлейкина-1 на фоне активации Т-лимфоцитов;
- повышенная продукция интерферона- γ и фактора некроза опухоли- α (ФНО- α);
- депрессия активности натуральных киллеров;
- нарушение трансформации моноцитов в макрофаги;
- выработка антител к колониеобразующим клеткам костного мозга.

Клинические проявления гипо- и апластических анемий и *критерии их лабораторной диагностики* представлены в табл. 3.11, 3.12 соответственно.

Т а б л и ц а 3.11

**Характеристика основных клинических синдромов
гипо- и апластических анемий**

Синдром	Механизм развития	Проявления
Анемический	Эритроцитопения	Слабость, снижение аппетита, головокружение, одышка, повышенная утомляемость, бледность кожи и слизистых, ногтевых фаланг, расширение границ сердца, систолический шум, тахикардия, экстрасистолия

О к о н ч а н и е т а б л. 3.11

Синдром	Механизм развития	Проявления
Геморрагический	Тромбоцитопения	Петехии, экхимозы, десневые, носовые, маточные и желудочно-кишечные кровотечения, кровоизлияния во внутренние органы
Инфекционно-септический	Гранулоцитопения	Язвенно-некротическое поражение кожи и слизистых оболочек, инфекционно-воспалительные заболевания (отит, синусит, пневмония и др.), сепсис

Т а б л и ц а 3.12

Дифференциальные критерии лабораторной диагностики нормохромных гипо- и апластических анемий с различными типами поражения гемопоэза

Показатель	Тип поражения гемопоэза	
	С избирательным поражением эритропоэза	Тотальный
Гемоглобин, г/л	25–80	
Окраска эритроцитов	Обычно в норме, возможны также гипохромия или гиперхромия	
Размер эритроцитов	Макроцитоз	
Регенеративные формы эритроцитов	Ретикулоцитопения	
Дегенеративные формы эритроцитов	Пойкилоцитоз	
Содержание НbF в эритроцитах	Повышено	
Количество лейкоцитов	В норме или лейкоцитоз (при инфекции, воспалении)	Лейкопения, нейтропения, эозинофилия, лимфоцитоз, плазмоцитоз
Количество тромбоцитов	Без особенностей	Тромбоцитопения
Состояние в костном мозге: — эритроидного роста — гранулоцитарного роста — мегакариоцитарного роста	Гипоплазия с задержкой созревания клеток Без изменений Без изменений	Гипоплазия с задержкой созревания клеток Гипоплазия с задержкой созревания клеток Гипоплазия с задержкой созревания клеток
Количество сидеробластов в костном мозге	Повышено	
Содержание в сыворотке крови: — эритропоэтина — Fe	Повышено В норме или повышено	

Анемии, ассоциированные с заболеваниями внутренних органов

Анемии при эндокринных заболеваниях

К таковым относятся анемии при заболеваниях щитовидной и паращитовидных желез, надпочечников, половых желез, гипопитуитаризме и другие, в основе *патогенеза* которых лежит угнетение эритропоэза при дефиците или, напротив, гиперсекреции ряда гормонов. В частности, показана способность тиреоидных гормонов, глюкокортикоидов, андрогенов стимулировать пролиферацию эритроидных клеток-предшественниц в костном мозге. При этом в очень высоких концентрациях тироксин, кортизол, тестостерон могут оказывать обратный эффект — вызывать угнетение пролиферативной активности эритроидных прекурсоров.

Клинические проявления анемии характеризуются симптомами гипоксии, выраженность которых коррелирует со степенью тяжести и длительностью основного заболевания.

Алгоритм лабораторной диагностики представлен на рис. 3.6. Чаще анемия носит нормохромный нормоцитарный характер, хотя иногда может быть как микроцитарной, так и макроцитарной (при гипо- и гипертиреозе, гипопитуитаризме и др.) вследствие сопутствующего дефицита железа, витамина В₁₂ или фолиевой кислоты. Возможны изменения формы эритроцитов (например, у 20% больных гипотиреозом обнаруживаются акантоциты). Количество лейкоцитов и тромбоцитов в большинстве случаев варьирует в пределах нормы, в отдельных случаях устанавливается лейко- и тромбоцитопения. Общее количество миелокариоцитов в костном мозге нормальное либо пониженное (за счет снижения количества клеток эритроидного ряда).

В случае сгущения крови в результате дегидратации (при надпочечниковой недостаточности, гипотиреозе) диагностика анемии может быть затруднена.

Анемии при заболеваниях печени

Данный вид анемий возникает при диффузных заболеваниях печени (цирроз, хронический гепатит, гемохроматоз и др.).

Механизм развития анемии при заболеваниях печени отличается многообразием патогенетических факторов, что

определяется особенностями основного заболевания. Выделяют следующие факторы развития анемии:

1) угнетение процессов кроветворения в костном мозге вследствие прямого повреждающего влияния на клетки-предшественницы гемопоэза алкоголя (при алкогольном поражении печени) и эндогенных токсинов (при нарушениях обезвреживающей и клиренсной функции печени), нарушений метаболизма железа, дефицита витамина B_{12} и фолиевой кислоты;

2) сокращение продолжительности жизни эритроцитов в результате прямого повреждающего действия токсических продуктов экзогенного (алкоголь) и эндогенного (при эндотоксемии) происхождения, нарушения способности эритроцитов к деформации вследствие патологии клеточной мембраны (при изменениях фракционного состава фосфолипидов, снижении содержания сialовых кислот), нарушений внутриклеточного метаболизма (например, в связи с дефицитом НАДФ в клетках), при гиперспленизме и др.;

3) кровотечения из расширенных вен желудочно-кишечного тракта (при циррозе печени), носовые, геморроидальные и иной локализации (при формирующейся недостаточности синтеза факторов свертывания крови вследствие нарушений белкового обмена).

Клинические проявления анемии характеризуются симптомами гипоксии и внутриклеточного гемолиза, степень выраженности которых определяется тяжестью поражения печени, уровнем спленомегалии, наличием осложнений.

Алгоритм лабораторной диагностики представлен на рис. 3.3. В подавляющем большинстве случаев при заболеваниях печени регистрируется нормохромная нормоцитарная анемия, при присоединяющемся дефиците железа — микроцитарная нормо- или гипохромная, при недостаточности витамина B_{12} и фолиевой кислоты, метастазах рака желудка в печень — макроцитарная анемия нормо- или гиперхромного типа. В мазках крови при оценке морфологических свойств эритроцитов наблюдаются анизоцитоз и пойкилоцитоз (акантоциты, мишеневидные эритроциты). На фоне кровотечений, а также при выраженном гемолизе возможен ретикулоцитоз (иногда более

100‰), при алкогольном поражении печени — ретикулоцитопения. Тромбоцитопения (не менее $50 \cdot 10^9/\text{л}$), качественные нарушения тромбоцитов имеют место у 50% больных циррозом печени. Количество лейкоцитов варьирует. При исследовании костного мозга обнаруживается нормальное или умеренно сниженное количество миелокариоцитов. При вирусных гепатитах возможно развитие апластической анемии.

Анемия при заболеваниях почек

Анемия может выявляться у больных острым гломеруло-нефритом, интерстициальным нефритом, при хронических заболеваниях почек (особенно часто у больных с хронической почечной недостаточностью).

Патогенез анемии при заболеваниях почек определяется следующими механизмами:

1) снижением продукции эритропоэтина клетками юкстагломерулярного аппарата;

2) депрессией кроветворения в костном мозге в результате нарушения пролиферативной активности эритроидных клеток и торможения процессов синтеза гема при действии токсических продуктов азотистого обмена;

3) сокращением срока жизни эритроцитов (до 40–50 дней).

Клинические проявления анемии характеризуются симптомами гипоксии. Степень тяжести анемического синдрома коррелирует с тяжестью поражения почек, выраженностью уремии.

Алгоритм лабораторной диагностики приведен на рис. 3.3. В периферической крови выявляется нормохромная нормоцитарная (реже гипохромная микроцитарная) анемия. Количество ретикулоцитов и общая клеточность костного мозга сохраняются в пределах нормальных значений или понижены (при среднетяжелой и тяжелой формах анемии).

Гипохромные анемии

К группе гипохромных анемий относятся железодефицитная и железорефрактерная (сидеробластная) анемии, талассемия и анемия хронических заболеваний, характеризующиеся снижением величины цветового показателя, среднего содержания

и концентрации гемоглобина в эритроците (МСН, МСНС) (см. табл. 3.5).

Алгоритм диагностики гипохромных анемий рассмотрен на рис. 3.6.



Рис. 3.6. Алгоритм диагностики гипохромных микроцитарных анемий (Новик А.А., Богданов А.Н., 2004)

Железодефицитная анемия

Железодефицитная анемия (ЖДА) относится к числу наиболее распространенных. Среди различных групп населения наиболее подверженными развитию железодефицита являются:

- женщины детородного возраста;
- дети первых лет жизни;
- подростки;
- пожилые люди;

- вегетарианцы;
- лица, страдающие некоторыми острыми и хроническими заболеваниями;
- лица, злоупотребляющие алкоголем.

Причины и механизмы возникновения ЖДА представлены в табл. 3.13.

Т а б л и ц а 3.13

Причины и механизмы развития железодефицитных состояний

Группа факторов	Этиологические факторы	Патогенез
	Характеристика	
Особенные периоды жизни	Новорожденные, особенно недоношенные дети. Дети первых лет жизни	Недостаточный исходный уровень железа
	Интенсивный рост (пубертатный период). Беременность. Лактация	Повышенное расходование железа
Патологические состояния и болезни	Хроническая кровопотеря: — при частых лечебных кровопусканиях, донорстве; — при заболеваниях сердечно-сосудистой системы (гипертоническая болезнь, геморрагическая телеангиэктазия и др.); — при патологии желудочно-кишечного тракта (варикозное расширение вен пищевода, диафрагмальная грыжа, язва желудка и двенадцатиперстной кишки, язвенный колит, дивертикулез, геморрой и др.); — при патологии органов мочеполовой системы (алкогольная нефропатия, туберкулез почек, почечнокаменная болезнь, полипы и рак мочевого пузыря, обильные меноррагии, эндометриоз, миома матки и др.); — при патологии органов дыхательной системы (рак легкого, туберкулез, бронхоэктазия и др.); — при заболеваниях системы крови (лейкозы, апластическая анемия, болезнь Маркиафавы–Микели и др.); — при патологии системы гемостаза (аутоиммунная тромбоцитопения, гемофилии, ДВС-синдром и др.)	Повышенная потеря железа
	Патология желудочно-кишечного тракта: — резекция желудка и кишечника; — гипосекретия желудочного сока; — хронический энтерит; — дисбактериозы; — глистные инвазии и др.	Нарушение всасывания железа

О к о н ч а н и е т а б л. 3.13

Этиологические факторы		Патогенез
Группа факторов	Характеристика	
Патологические состояния и болезни	Наследственная атрансферринемия. Приобретенная гипотрансферринемия (при нарушении белоксинтезирующей функции печени)	Нарушение транспорта железа
	Алкоголизм	Комбинация патогенетических факторов: — недостаточное поступление железа; — нарушение транспорта железа; — нарушение всасывания железа; — потеря железа
Неблагоприятные воздействия	Нерациональное питание: — голодание; — вегетарианская диета; — искусственное вскармливание грудных детей	Недостаточное поступление железа
	Избыточные физические нагрузки	Повышенное расходование железа

Показатели обмена железа, распределение в организме и схема его метаболизма в организме представлены в табл. 3.14, 3.15 и на рис. 3.7 соответственно.

Т а б л и ц а 3.14

Лабораторные показатели обмена железа в организме здорового человека

Показатель	Нормальные значения	
Сывороточное железо, мг/л	Мужчины	0,5–1,7
	Женщины	0,4–1,6
ОЖСС, мкмоль/л	44,8–76,1	
Трансферрин, мг/л	Мужчины	2,15–3,65
	Женщины	2,5–3,8
НТЖ, %	Мужчины	15–50
	Женщины	20–50
Ферритин сыворотки крови, мкг/л	Мужчины	20–250
	Женщины	10–120

Примечание. Здесь и далее: ОЖСС — общая железосвязывающая способность сыворотки, НТЖ — насыщение трансферрина железом.

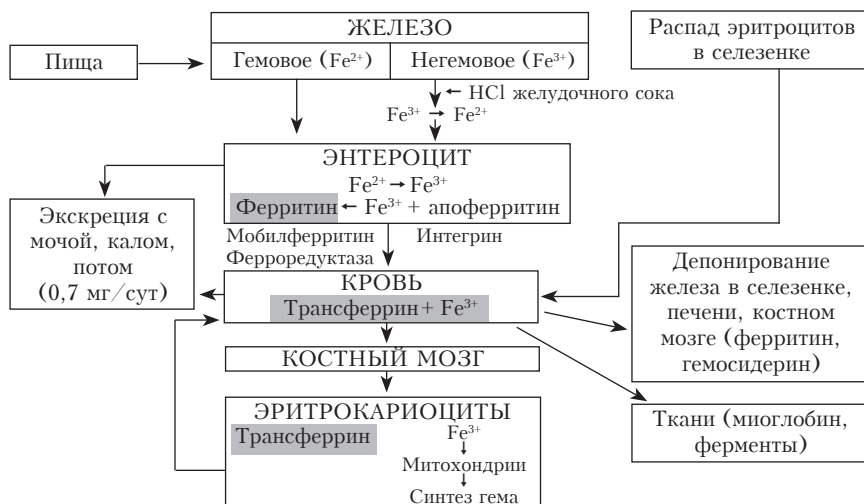


Рис. 3.7. Схема метаболизма железа в организме

Таблица 3.15

Распределение железа в организме взрослого человека
(Городецкий В.В., Годулян О.В., 2004)

Тип железа	Концентрация железа, мг/кг массы тела	
	Женщины	Мужчины
Функциональное железо:		
гемоглобин	28	31
миоглобин	4	5
гемсодержащие ферменты	1	1
гемнесодержащие ферменты	1	1
Транспортное железо — трансферрин	<1 (0,2)	<1 (0,2)
Депонированное железо:		
ферритин	4	8
гемосидерин	2	4
Всего	40	50

Патогенез заболевания описан в табл. 3.13. Снижение содержания железа в сыворотке крови, костном мозге и депо сопровождается нарушением синтеза гемоглобина, что приводит к угнетению процессов пролиферации и дифференцировки эритроидных клеток, активации неэффективного эритропоэза и сокращению продолжительности жизни эритроцитов.

Т а б л и ц а 3.16

Характеристика основных клинических симптомов железодефицитной анемии

Органы и системы	Клинические проявления
Кожа, слизистые оболочки	Сухость, бледность, глоссит, ангулярный стоматит
Волосы	Утрата естественного блеска, сухость, ломкость, сечение, раннее поседение
Ногти	Ломкость, истончение, поперечная исчерченность, койлонихия
Нервная система	Повышенная утомляемость, сонливость, нарушение концентрации внимания, головокружение, головная боль, извращение обоняния и вкуса (<i>pica chlorotica</i>)
Органы пищеварения	Нарушение глотания, эзофагит, гастродуоденит, ахлоргидрия, запоры и диарея
Сердечно-сосудистая система	Сердцебиение, одышка, отеки
Мочеполовая система	Ночное недержание мочи (преимущественно у девочек), дисменорея, эректильная дисфункция
Мышцы	Миастения, непроизвольное мочеиспускание при кашле и смехе
Иммунная система	Склонность к инфекционно-воспалительным заболеваниям

Клинические проявления (табл. 3.16) ЖДА определяются:

- 1) недостаточным снабжением тканей кислородом;
- 2) дефицитом железосодержащих ферментов (цитохрома С, цитохромоксидазы, сукцинатдегидрогеназы, пероксидазы, каталазы, ксантиноксидазы и др.).

Критерии лабораторной и дифференциальной диагностики, схем патогенеза отражены в табл. 3.17, 3.19 соответственно, на рис. 3.16 представлена картина периферической крови при анемии.

Различают три стадии развития дефицита железа (табл. 3.17).

1. Предлатентный дефицит железа — потери железа превышают объем его поступления, имеет место компенсаторное увеличение всасывания железа в кишечнике и истощение его запасов без снижения концентрации сывороточного железа и гемоглобина.

2. Латентный — истощение запасов железа со снижением уровня сывороточного железа без изменений концентрации гемоглобина.

3. Манифестный (ЖДА) — истощение запасов железа со снижением уровня сывороточного железа и концентрации гемоглобина:

- легкий (компенсированная ЖДА) — без гипохромии и микроцитоза эритроцитов;
- выраженный (субкомпенсированная ЖДА) — с гипохромией и микроцитозом эритроцитов;
- тяжелый (декомпенсированная ЖДА) — с симптомами тканевых нарушений.

Т а б л и ц а 3.17

Критерии диагностики дефицита железа

Показатель	Норма	Дефицит железа		
		Предлатентный	Латентный	Манифестный
Гемоглобин, г/л				
мужчины	130–160	Норма	>130	<130
женщины	120–140	Норма	>120	<120
МСН, пг	24–33	Норма	Норма	<24
MCV, фл	80–95	Норма	Норма	<80
Сывороточное железо, мкмоль/л				
мужчины	11,6–31,3	Норма	<11,6	<11,6
женщины	9,0–30,4	Норма	<9,0	<9,0
ОЖСС, мкмоль/л	44,8–76,1	Норма	>76,1	>76,1
НТЖ, %				
мужчины	15–50	Норма	<15	<15
женщины	20–50			
Трансферрин, мг/л				
мужчины	2,15–3,65	Норма	>3,8	>3,8
женщины	2,5–3,8			
Ферритин сыворотки крови, мкг/л				
мужчины	20–250	Норма	<20	<20
женщины	10–120	Норма	<10	<10

Железорефрактерная (сидеробластная) анемия

Гетерогенная группа анемий наследственной или приобретенной природы. Приобретенные формы могут быть связаны со свинцовой интоксикацией, приемом противотуберкулезных и противоопухолевых препаратов.

Патогенез. В основе анемии лежит нарушение активности ферментов, участвующих в синтезе порфиринов (рис. 3.8), что приводит к активации неэффективного эритропоэза и

сокращению срока жизни эритроцитов. Блокирование синтеза порфиринов обуславливает невозможность утилизации железа в биосинтезе гема, накопление железа в организме и отложение его в тканях и органах.

Клинические проявления характеризуются симптомами гипоксии и тканевого гемосидероза. Характерный признак — землистый оттенок кожи. При отравлении свинцом отмечаются признаки поражения ЦНС (головная боль, головокружение, плохой сон, судороги, парезы), кожа приобретает сероватый оттенок, образуется свинцовая каемка на деснах у шеек зубов.

Критерии лабораторной диагностики приведены в табл. 3.19.

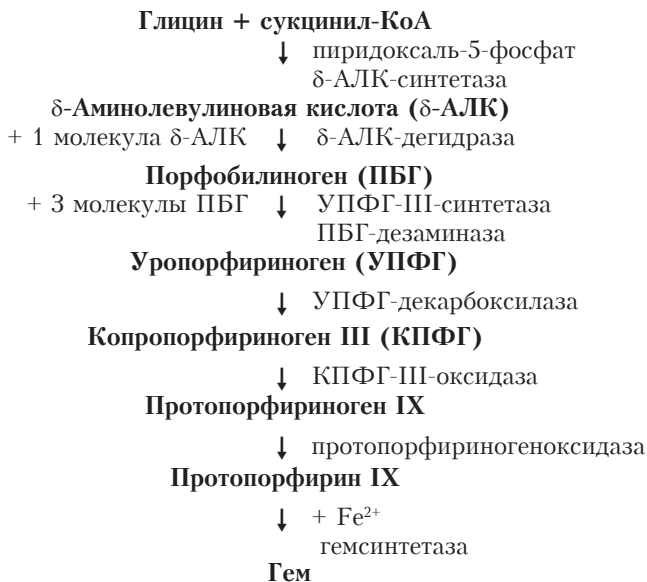


Рис. 3.8. Схема синтеза гема

Талассемия

Талассемия принадлежит к числу наследственных гемоглобинопатий, связанных с недостаточностью синтеза отдельных полипептидных цепей глобина. При этом химическая структура гемоглобина остается нормальной. Встречается в странах Средиземноморья, на Кубе, в Средней Азии, на Кавказе, Дальнем Востоке.

β-Талассемия — аутосомно-рецессивная или аутосомно-доминантная наследственная анемия.

Патогенез. Мутация локуса β-глобина на хромосоме 11 сопровождается нарушением синтеза β-цепей и избыточным синтезом α-цепей гемоглобина, в результате чего образуется нестабильный гемоглобин, выпадающий в эритроцитах в виде телец включения с формированием мишеневидных эритроцитов. При этом нарушаются процессы ассимиляции железа, имеет место ранняя гибель эритроцитов в результате внутриклеточного гемолиза.

Клинические признаки. В зависимости от выраженности клинико-гематологических проявлений выделяют три клинических варианта β-талассемии: гомозиготный (большая талассемия (болезнь Кули)) и гетерозиготные (промежуточная и малая талассемии).

Для болезни Кули характерны следующие признаки:

- физическое и умственное недоразвитие;
- бледная желтушная кожа (тяжелым осложнением анемии является гемосидероз, придающий коже зеленовато-коричневый оттенок);
- монголоидный разрез глаз;
- деформация костей черепа (башенный череп, увеличение верхней челюсти, нарушение прикуса; на рентгенограмме — расширение костномозгового канала трубчатых костей, поперечная исчерченность плоских костей черепа (игольчатый периостоз);
- язвы нижних конечностей;
- гепато- и спленомегалия.

Критерии лабораторной диагностики болезни Кули описаны в табл. 3.19.

Анемия хронических заболеваний

Анемия хронических заболеваний (АХЗ) развивается при инфекционно-воспалительных процессах, системных заболеваниях соединительной ткани и опухолях (табл. 3.18). К АХЗ не относятся анемии, возникающие при заболеваниях эндокринной системы, печени и почек (даже если они являются хроническими).

Т а б л и ц а 3.18

Причины развития анемий хронических заболеваний

Группа заболеваний	Примеры заболеваний
Инфекционно-воспалительные	Менингит, пневмония, туберкулез, инфекционный эндокардит, остеомиелит, сифилис, ВИЧ-инфекция, грибковые инфекции и др.
Системные заболевания соединительной ткани	Ревматизм, ревматоидный артрит, системная красная волчанка, дерматомиозит и др.
Опухолевые	Множественная миелома, неходжкинские лимфомы, лимфогранулематоз, рак легкого, рак молочной железы, рак яичников и др.

В *патогенезе* АХЗ (рис. 3.9) основное значение имеют:

- нарушение метаболизма железа;
- недостаточная продукция эритропоэтина;
- угнетение эритропоэза;
- сокращение продолжительности жизни эритроцитов (в среднем до 80 дней).

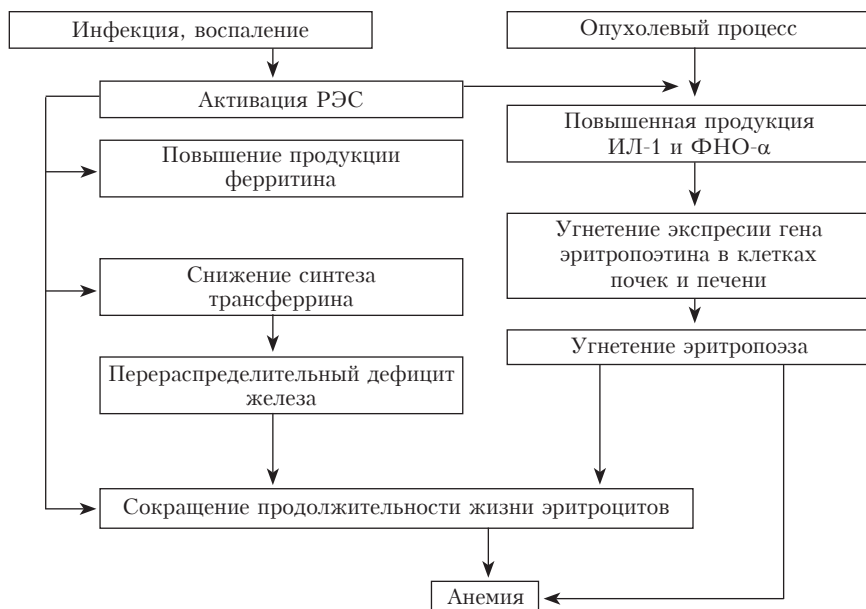


Рис. 3.9. Схема патогенеза анемии хронических заболеваний

Т а б л и ц а 3.19

Дифференциальные критерии лабораторной диагностики гипохромных анемий

Показатель	Железодefицитная анемия	Анемия хронических заболеваний	Сидеробластная анемия	β-Талассемия
Гемоглобин, г/л	Женщины: <120 Мужчины: <130	80–90	50–60	20–60
Окраска эритроцитов	Гипохромия	Гипохромия или в норме	Гипохромия	Гипохромия
Размер эритроцитов	Микроцитоз	Микроцитоз или в норме	Микроцитоз	Микроцитоз
Регенеративные формы эритроцитов	Количество ретикулоцитов снижено, в норме или повышено (на фоне кровопотери)	Количество ретикулоцитов в норме или снижено	Ретикулоцитопения (при наследственной форме) или ретикулоцитоз (при приобретенной форме), базофильная зернистость (при отравлении свинцом)	Ретикулоцитоз, базофильная зернистость
Дегенеративные формы эритроцитов	Овалоцитоз	Овалоцитоз	Мишеневидные клетки	Мишеневидные клетки
Количество лейкоцитов	Возможны лейкопения, нейтропения или нейтрофильный лейкоцитоз (на фоне кровопотери)	Лейкоцитоз	В норме	Лейкопения с лимфоцитозом; в период криза – нейтрофильный лейкоцитоз с ядерным сдвигом влево
Количество тромбоцитов	В норме или тромбоцитоз (на фоне кровопотери)	В норме или снижено	В норме	Тромбоцитопения
Состояние эритроидного ростка в костном мозге	Гипоплазия, задержка созревания эритрокариоцитов	Гипоплазия, задержка созревания эритрокариоцитов	Гиперплазия, задержка созревания эритрокариоцитов	Гиперплазия

О к о н ч а н и е т а б л. 3.19

Показатель	Железодефицитная анемия	Анемия хронических заболеваний	Сидеробластная анемия	β-Талассемия
Количество сидеробластов в костном мозге	Снижено	В норме или повышено	Повышено (до 70%)	В норме или повышено
Показатели обмена железа: сывороточное железо ОЖСС трансферрин НТЖ ферритин	Снижено Повышена Повышен Снижено Снижен	Снижено Снижена Снижен Снижено Повышен	Повышено Повышена Снижен Повышено (около 100%) Повышен	В норме или повышено В норме или снижена В норме В норме или повышено Повышен
Содержание билирубина в сы- воротке крови	В норме	В норме	Повышено	Повышено
Данные дополнительных методов исследования	Увеличение содержания в крови растворимых рецепторов к трансферрину	Повышение содержания ИЛ-1 и ФНО-α в крови. Повышение содержания фибриногена в крови. Снижение содержания альбуминов в крови	Снижение содержания топорфрина и повышение содержания копропорфрина в эритроцитах. При отравлении свинцом повышенное содержание топорфрина в эритроцитах, δ-АЛТ и копропорфрина – в моче	Повышение осмотической резистентности эритроцитов (начало гемолиза в дистиллированной воде). При электрофорезе Hb – повышенное содержание HbA ₂ и HbF

В патогенезе АХЗ у больных злокачественными новообразованиями решающую роль наряду с цитокинопосредованным угнетением эритропоэза играют также метастатическое поражение костного мозга и миелофиброз.

Специфические *клинические признаки* при АХЗ отсутствуют. Выраженность АХЗ прямо пропорциональна продолжительности и тяжести основного заболевания, признаки которого чаще превалируют над гипоксическими проявлениями анемического синдрома.

Критерии лабораторной диагностики отражены в табл. 3.19. Проводится дифференциальная диагностика с ЖДА, основополагающими критериями которой выступают показатели обмена железа: общая железосвязывающая способность сыворотки крови, содержание в последней трансферрина и, что особенно важно, ферритина (табл. 3.19).

Гиперхромные анемии

Гиперхромные анемии характеризуются увеличением цветового показателя и индексов эритроцитов (МСН, МСНС) выше нормы. К ним относятся B_{12} -, фолиево-дефицитная анемии и гемолитическая болезнь новорожденного.

Мегалобластные (B_{12} - и фолиево-дефицитная) анемии

Витамин B_{12} и фолиевая кислота — кофакторы синтеза ДНК, дефицит которых сопровождается нарушением процессов пролиферации клеток с высоким кругооборотом — клеток крови и клеток кишечного эпителия (рис. 3.10). Схема метаболизма витамина B_{12} представлена на рис. 3.11.

Этиологические факторы развития мегалобластных анемий приведены в табл. 3.20.

Т а б л и ц а 3.20

Факторы развития мегалобластных анемий

B_{12} -дефицитная анемия	Фолиево-дефицитная анемия
1. Недостаточное поступление витамина B_{12} с пищей вследствие нерационального питания: — голодание; — строгая вегетарианская диета.	1. Недостаточное поступление фолиевой кислоты с пищей: — голодание; — вскармливание грудных детей козьим молоком; — дефицит зеленых овощей в пищевом рационе;

Окончание табл. 3.20

В ₁₂ -дефицитная анемия	Фолиево-дефицитная анемия
<p>2. Нарушение всасывания и утилизации витамина В₁₂:</p> <ul style="list-style-type: none"> — у недоношенных детей; — отсутствие внутреннего фактора Касла: <i>наследственная форма</i> (болезнь Аддисона—Бирмера) — аутосомно-доминантное заболевание, связанное с неспособностью слизистой желудка синтезировать внутренний фактор; <i>приобретенная форма</i>, связанная с образованием антител к внутреннему фактору, угнетением секреторной функции желудка вследствие атрофического гастрита, резекции желудка, рака желудка и др.; — врожденная аномалия фактора Касла; — патология тонкого кишечника (энтерит, полипоз, спру, резекция, рак и др.); — заболевания поджелудочной железы; — прием лекарственных препаратов (оральных контрацептивов, противотуберкулезных средств, колхицина и др.). <p>3. Повышенное расходование витамина В₁₂:</p> <ul style="list-style-type: none"> — в физиологических условиях (при беременности, лактации, в пубертатном периоде); — при патологии (при гипертиреозе, заболеваниях печени, злокачественных новообразованиях). <p>4. Конкурентное потребление витамина В₁₂ (например, широким лентецом при дифиллоботриозе, патологической микрофлорой при дивертикулезе, синдроме слепой кишки).</p> <p>5. Нарушение транспорта витамина В₁₂:</p> <ul style="list-style-type: none"> — при наследственном дефиците транскобаламина II 	<ul style="list-style-type: none"> — длительная термическая обработка пищи. <p>2. Нарушение всасывания и утилизации фолиевой кислоты:</p> <ul style="list-style-type: none"> — у недоношенных детей; — при дефиците витамина В₁₂; — при патологии тонкого кишечника (энтерит, полипоз, тропическая спру, глютеновая энтеропатия, резекция, рак и др.); — при алкоголизме; — на фоне приема лекарственных препаратов (оральных контрацептивов, противосудорожных, противотуберкулезных препаратов и др.). <p>3. Повышенное расходование фолиевой кислоты:</p> <ul style="list-style-type: none"> — в физиологических условиях (при беременности, лактации, в пубертатном периоде); — в условиях патологии — при заболеваниях с высокой скоростью процессов пролиферации клеток (гемолитическая и сидеробластная анемии, множественная миелома, сублейкемический миелоз), при туберкулезе, гипертиреозе и др. <p>4. Нарушение депонирования фолиевой кислоты в печени (при алкоголизме, циррозе печени, гепатоцеллюлярном раке и др.)</p>

Патогенез мегалобластных анемий (см. рис. 3.10):

1. Дефицит метил-В₁₂ и фолиевой кислоты → нарушение синтеза ДНК (синтез РНК при этом не страдает) → удлинение S-стадии клеточного цикла → задержка митоза → нарушение деления и созревания:

- клеток крови → мегалобластный эритропоэз → анемия;
- клеток ЖКТ → расстройства пищеварения.

2. Дефицит 5-дезоксиаденозил-В₁₂ → нарушение метаболизма жирных кислот: нарушение синтеза миелина и накопление токсичной метилмалоновой кислоты → демиелинизация серого вещества в головном и спинном мозге, периферических нервах → неврологические расстройства (фуникулярный миелоз).

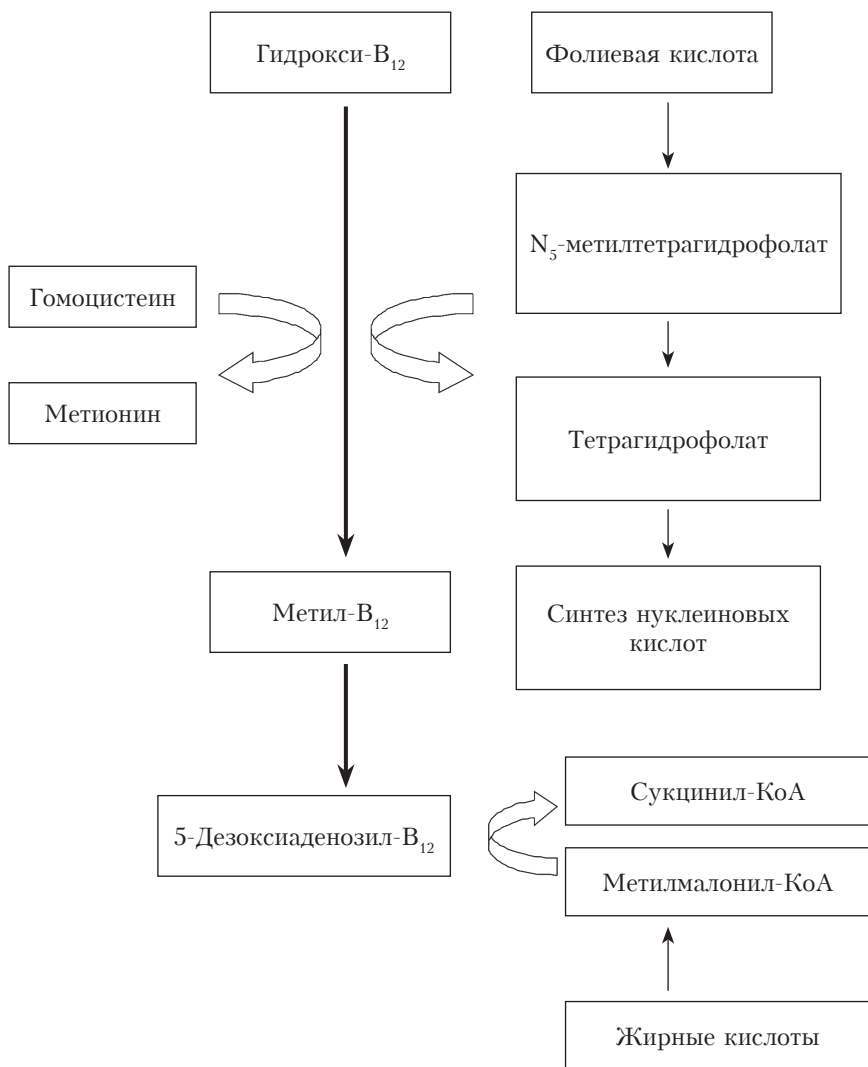
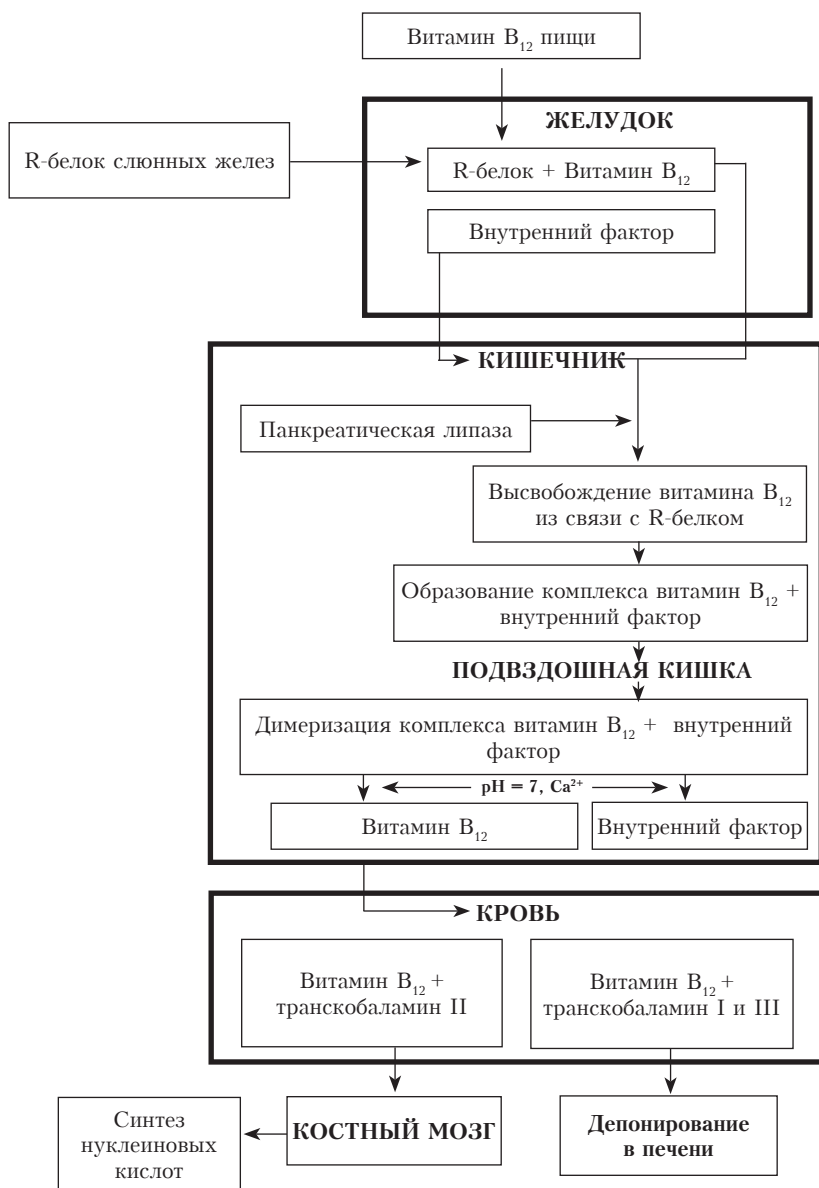


Рис. 3.10. Схема биохимических реакций, протекающих в организме с участием витамина B₁₂ и фолieвой кислоты (Долгов В.В. и соавт., 2001)

Рис. 3.11. Схема метаболизма витамина B_{12}

Клинические проявления, алгоритм и критерии лабораторной диагностики мегалобластных анемий описаны в табл. 3.21, 3.22, на рис. 3.12, картина периферической крови на рис. 3.16.

Таблица 3.21

Характеристика основных клинических симптомов мегалобластных анемий

Органы и системы		Клинические проявления	
		V_{12} -дефицитная анемия	Фолиево-дефицитная анемия
Кожа, слизистые оболочки		Иктеричность склер, сухость и лимонно-желтый цвет кожи (обусловлен сочетанием бледности и желтухи), гиперпигментация кожи	
Сердечно-сосудистая система		Тахикардия	
Нервная система	Признаки гипоксии	Слабость, повышенная утомляемость, сонливость, нарушение концентрации внимания, головокружение, головная боль	
	Фуникулярный миелоз	Парестезии, нарушение температурной и тактильной чувствительности, неуверенная (шаткая) походка, при прогрессировании патологического процесса — спазмы мышц конечностей, галлюцинации, бред, маниакально-депрессивный синдром, деменция	Не выявляется
Органы пищеварения		Воспаление языка (глоссит) — появление ярко-красных участков, чувствительных к кислой пище, что проявляется болями, жжением языка во время приема пищи и может стать причиной снижения аппетита вплоть до отвращения к пище, потери вкусовых ощущений, в поздние сроки — атрофия сосочков языка (лакированный язык), атрофия слизистой желудка, в ряде случаев — расстройство стула, жжение прямой кишки, гепато- и спленомегалия	

Гемолитическая болезнь новорожденного

Гемолитическая болезнь новорожденного (ГБН), или эритробластоз плода, относится к числу изоиммунных гемолитических анемий.

Этиология. Причиной развития ГБН может быть несовместимость матери и плода по следующим параметрам:

- 1) по антигенам эритроцитов системы Rh (D): у Rh-положительных детей от Rh-отрицательных матерей;
- 2) по антигенам эритроцитов системы АВ0: у детей с группой крови А, В или АВ, матери которых имеют группу крови 0 (встречается редко).

Патогенез (рис. 3.13). Первая беременность Rh-отрицательной матери Rh-положительным плодом обычно протекает нормально.



Рис. 3.12. Алгоритм диагностики гиперхромных мегалобластных анемий

Т а б л и ц а 3.22

Дифференциальные критерии лабораторной диагностики гиперхромных анемий

Показатель	В ₁₂ -дефицитная анемия		Гемолитическая болезнь новорожденного
	В ₁₂ -дефицитная анемия	Фолиево-дефицитная анемия	
Гемоглобин, г/л	25–40		Менее 120
Окраска эритроцитов	Гиперхромия		Гиперхромия
Размер эритроцитов	Макроцитоз		Макроцитоз
Регенеративные формы эритроцитов	Ретикулоцитопения, эритроциты с тельцами Жолли и кольцами Кабо, базофильная зернистость		Ретикулоцитоз (до 100–150%), полихроматофилия
Дегенеративные формы эритроцитов	Мегалоциты и мегалобласты, овалоциты, каплевидные клетки, шизоциты		Шизоциты, нормобласты
Количество лейкоцитов	Лейкопения, нейтропения, лимфоцитоз, моноцитопения, анэозинофилия, абазофилия, сдвиг формулы вправо – появление в крови гигантских гиперсегментированных нейтрофилов		Лейкоцитоз со сдвигом влево до миелоцитов
Тромбоциты: количество качественные особенности	Снижено Гигантские и уродливые клетки		В норме Без особенностей
Особенности кроветворения в костном мозге: активность эритропоэза тип эритропоэза морфологическая картина	Повышена Мегалобластический Мегалобласты (клетки больших размеров с десинхронизацией процессов созревания ядра и гемоглобинизации цитоплазмы), преобладание базофильных форм клеток («синий» костный мозг), повышение количества сидеробластов		Повышена Нормобластический Преобладание клеток эритроидного ряда

О к о н ч а н и е т а б л. 3.22

Показатель	В ₁₂ -дефицитная анемия	Фолиево-дефицитная анемия	Гемолитическая болезнь новорожденного
Особенности кала: цвет содержание стеркобилин- ногена	Темный Умеренно повышено	Темный Умеренно повышено	Темный Резко повышено
Содержание в сыворотке крови: Fe билирубина			
Особенности мочи: цвет уробилиноген	Темный Определяется	В норме или повышено Умеренное повышение	Повышено Резко повышено
Данные дополнительных методов исследования			
	Снижение содержания витамина В ₁₂ в сыворотке крови (менее 200 нг/л)	Снижение содержания фолиевой кислоты в сыворотке крови (менее 4 мкг/л) и эритроцитах (менее 140 мкг/л)	Выявление в сыворотке крови антител к Rh (D)-антигену эритроцитов. Спектрофотометрическое опре- деление билирубина в амниоти- ческой жидкости. УЗИ плода (определение размеров плаценты и печени, наличия асцита и др.)

Во время родов происходит иммунизация матери антигенами эритроцитов плода с выработкой антиэритроцитарных антител (анти-Rh (D)-IgG), которые в период второй беременности Rh-положительным плодом фиксируются на эритроцитах плода и обуславливают гибель эритроцитарных клеток путем внутриклеточного гемолиза с развитием эритроblastоза плода.

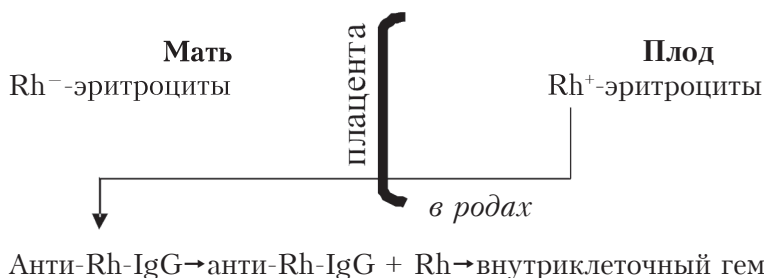


Рис. 3.13. Схема патогенеза гемолитической болезни новорожденного

Т а б л и ц а 3.23

Дифференциальные критерии физиологической и патологической желтухи

Критерий различий	Вид желтухи	
	Физиологическая	Патологическая
Время проявления	2-е–3-и сут после рождения	При рождении
Длительность	1 нед	1 мес (даже при условии лечения)
Размеры печени и селезенки	Не изменены	Увеличены
Цвет мочи	Не изменен	Темный

Критерии лабораторной диагностики представлены в табл. 3.23, картина периферической крови на рис. 3.16.

Выраженность *клинических проявлений* определяется количеством проникших в организм плода антиэритроцитарных антител. Основными симптомами ГБН являются желтуха, гепато- и спленомегалия (см. табл. 3.23), в тяжелых случаях — отеки, асцит (из-за недостаточности кровообращения). Наиболее опасным симптомом анемии служит «ядерная желтуха» с признаками поражения нервной системы вследствие токсического действия непрямого билирубина, к которым относятся нистагм, судорожные подергивания, крик высокой тональности. Встречаются случаи мертворождения.

Эритроцитозы

Под эритроцитозом понимают увеличение содержания эритроцитов в крови. Выделяют две группы эритроцитозов:

1) относительные — увеличение содержания эритроцитов и гемоглобина в единице объема крови без повышения их абсолютного количества;

2) абсолютные — увеличение абсолютного количества эритроцитов в крови.

Относительные эритроцитозы имеют, как правило, преходящий характер. Они подразделяются на два вида:

а) гемоконцентрационные, возникающие при уменьшении объема плазмы (сгущении крови) вследствие дегидратации организма (при неукротимой рвоте, диарее, обильном потоотделении, ожоговой болезни и др.);

б) стресс-эритроцитозы, которые развиваются за счет выброса эритроцитов из органов-депо (при стресс-реакции, в сосудисто-рефлекторную фазу компенсаторных реакций на фоне острой кровопотери, при синдроме Гайсбека (или ложной полицитемии курильщиков), гипертензии и др.).

Абсолютные эритроцитозы обуславливаются увеличением эритропоэтической функции костного мозга:

а) на фоне повышенной продукции эритропоэтина в организме:

— гипоксические, которые развиваются в результате повышенной продукции эритропоэтина клетками юкстагломерулярного аппарата почек в ответ на долговременную гипоксию: при снижении парциального давления кислорода в воздухе (при кессонной, высокогорной болезнях и др.), при заболеваниях органов дыхания (бронхиальная астма, эмфизема, интерстициальная пневмония, диффузный пневмосклероз и др.), патологии сердечно-сосудистой системы (пороки сердца, гипертрофическая кардиомиопатия, геморрагическая телеангиэктазия и др.), локальной ишемии почек (киста почек, гидронефроз, повреждение почечных сосудов и др.);

— опухолевые, развивающиеся за счет продукции эритропоэтина опухолевыми клетками: при феохромоцитоме, гипернефроне, гепатоцеллюлярной карциноме, раке желудка и др.;

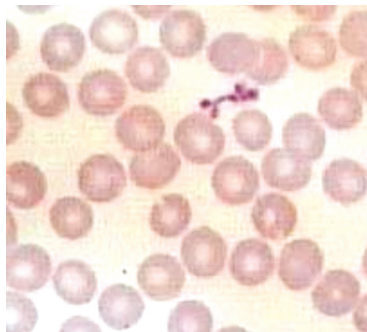


Рис. 3.14. Эритроциты здорового человека. Окраска азур II-эозином.
Ув. 900

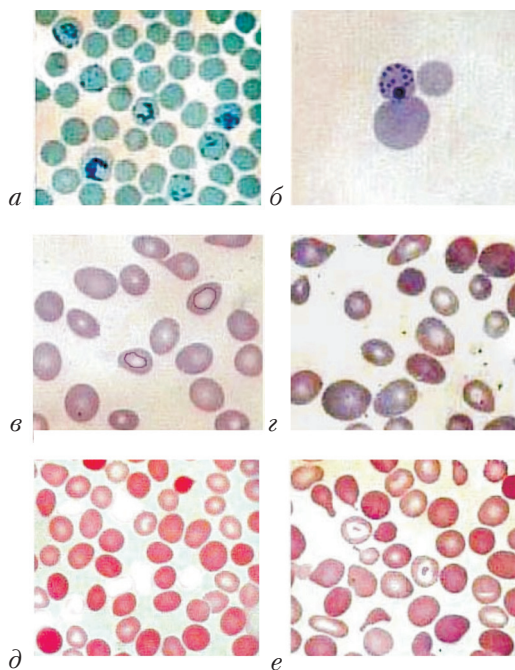


Рис. 3.15. Патологические формы эритроцитов.

Регенеративные: *а* — ретикулоциты; *б* — эритроцит с тельцем Жолли и базофильной зернистостью; *в* — эритроциты с кольцами Кабо. Дегенеративные: *г* — анизоцитоз; *д* — анизохромия; *е* — пойкилоцитоз). Окраска: *а* — суправитальная, *б–е* — азур II-эозином. Ув. 900

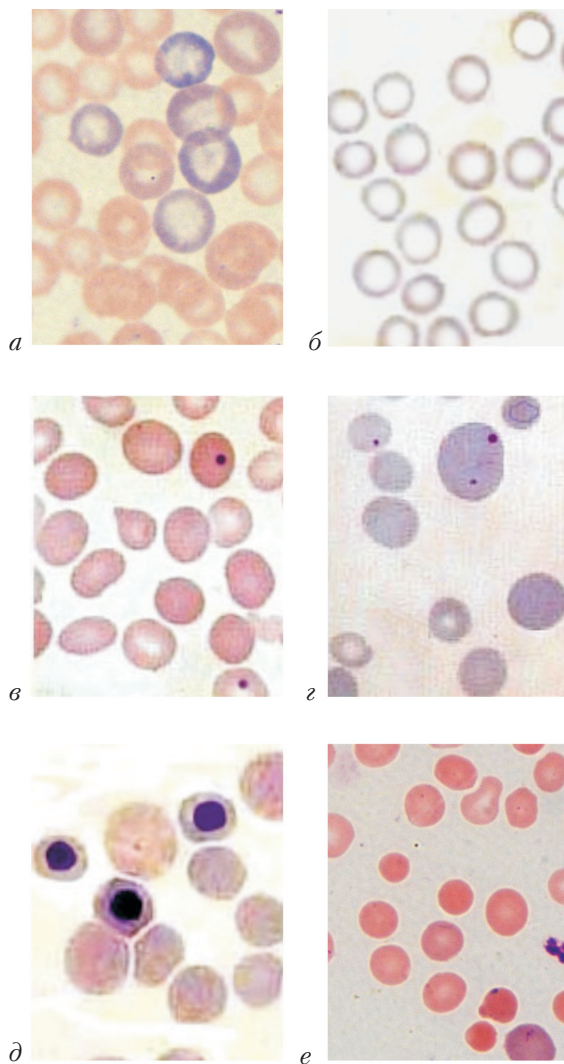


Рис. 3.16. Картина периферической крови при анемиях: *а* — острая пост-геморрагическая анемия; *б* — железодефицитная анемия; *в*, *г* — В₁₂-дефицитная анемия; *д* — гемолитическая болезнь новорожденного; *е* — наследственный микросфероцитоз. Окраска азур II-эозином. Ув. 900

б) при нормальной продукции эритропоэтина клетками юкстагломерулярного аппарата почек — миелопролиферативные: при эритремии (или истинной полицитемии) за счет опухолевой гиперплазии эритроидного ростка вследствие дефекта клетки-предшественницы миелопоэза.

К группе абсолютных относятся также эндокринные эритроцитозы, возникающие вследствие способности ряда гормонов оказывать прямое или опосредованное (через усиление продукции эритропоэтина клетками юкстагломерулярного аппарата почек) стимулирующее влияние на эритропоэз: при тиреотоксикозе, синдроме Иценко—Кушинга, гиперальдостеронизме, гиперандрогенемии и др.

Описаны наследственные (семейные) эритроцитозы.

Клинические проявления эритроцитозов характеризуются симптомами повышенной вязкости крови — головной болью, нарушением зрения, гипертензией, тромбозами и др.

С целью *лабораторной диагностики* эритроцитозов определяют содержание эритроцитов и гемоглобина в единице объема крови, абсолютное количество эритроцитов в крови, СОЭ, гематокрит, объем плазмы, вязкость крови, напряжение кислорода в артериальной крови, концентрацию эритропоэтина, окиси углерода, проводят УЗИ почек и др.

Контрольные вопросы и задания

1. Дайте определение понятия «анемия». Перечислите общие клинические признаки и лабораторные критерии диагностики анемий.

2. Приведите общий алгоритм (этапы) диагностики анемий.

3. Опишите методы клинического анализа крови. Какие показатели могут быть определены с помощью кондуктометрического метода анализа крови?

4. Назовите особенности морфологии эритроцитов при анемиях.

5. Дайте классификацию анемий: патогенетическая, по степени тяжести, с учетом морфологических критериев (по цветовому показателю, величине СДЭ, содержанию железа в сыворотке

крови, типу эритропоэза) и регенеративной активности костного мозга.

6. Какие виды анемий относятся к числу нормохромных, гипохромных и гиперхромных?

7. Составьте алгоритм диагностики нормохромных нормоцитарных анемий.

8. Опишите острую постгеморрагическую анемию: причины развития, клиника, механизмы адаптации. Особенности состава крови в различные сроки после острой кровопотери. Критерии лабораторной диагностики стадий ОПГА.

9. Дайте классификацию гемолитических анемий.

10. Назовите причины и дифференциальные клиничко-лабораторные признаки внутри- и внеклеточного гемолиза. Каковы особенности обмена желчных пигментов в организме?

11. Наследственные формы нормохромных гемолитических анемий: наследственный микросфероцитоз, овалоцитоз, стоматоцитоз, акантоцитоз, анемия, связанная с дефицитом глюкозо-6-фосфатдегидрогензы и пуриваткиназы, серповидно-клеточная анемия. Тип наследования, особенности патогенеза и клинической картины, критерии дифференциальной лабораторной диагностики.

12. Дайте характеристику поверхностных антигенов эритроцитов.

13. Приведите классификацию антиэритроцитарных антител.

14. Приобретенные нормохромные гемолитические анемии: иммунные (аутоиммунная гемолитическая анемия, обусловленная тепловыми антителами, болезнь холодовых агглютининов, пароксизмальная холодовая гемоглобинурия) и неиммунные (пароксизмальная ночная гемоглобинурия). Опишите причины и механизмы развития, дифференциальные критерии клиничко-лабораторной диагностики.

15. Назовите причины и механизмы развития нормохромных гемолитических анемий, связанных с повреждением мембраны эритроцитов и разрушением эритроцитов паразитами. Каковы критерии их лабораторной диагностики?

16. Гипо- и апластические анемии — классификация, этиология, патогенез, характеристика основных клинических синдромов.

17. Назовите дифференциальные критерии лабораторной диагностики гипо- и апластических анемий с избирательным поражением эритропоэза и тотальным угнетением костномозгового кроветворения.

18. Опишите анемию, ассоциированную с заболеваниями внутренних органов: виды, патогенез, клинико-гематологическая характеристика.

19. Составьте алгоритм диагностики гипохромных микроцитарных анемий.

20. Перечислите причины и механизмы развития железодефицитных состояний у человека.

21. Охарактеризуйте показатели обмена железа.

22. Метаболизм и распределение железа в организме человека.

23. Патогенез и основные клинические симптомы железодефицитной анемии.

24. Назовите стадии дефицита железа, критерии их диагностики. Какие критерии лабораторной диагностики ЖДА вы знаете?

25. Гипохромные анемии, не связанные с дефицитом железа: железорефрактерная (сидеробластная) анемия, β -талассемия, анемия хронических заболеваний. Опишите причины развития, особенности патогенеза и клинической картины, дифференциальные критерии лабораторной диагностики.

26. Метаболизм витамина B_{12} и фолиевой кислоты в организме человека.

27. Мегалобластные B_{12} - и фолиево-дефицитная анемии: этиология, патогенез, характеристика основных клинических синдромов.

28. Опишите механизм неврологических расстройств при B_{12} -дефицитной анемии. Что такое фуникулярный миелоз, каковы его клинические проявления?

29. В чем заключаются нарушения со стороны пищеварительного тракта при B_{12} - и фолиево-дефицитной анемиях?

30. Приведите алгоритм и дифференциальные критерии лабораторной диагностики гиперхромных мегалобластных анемий.

31. Эритробластоз новорожденных. Дайте характеристику этиологии, патогенеза, клинических проявлений, критериев лабораторной диагностики.

32. Назовите клинико-лабораторные различия физиологической и патологической желтухи у новорожденных.

33. Сформулируйте понятие об эритроцитозе. Охарактеризуйте виды эритроцитозов, механизмы их развития, клинические проявления, методы лабораторной диагностики.

Тесты для контроля знаний

1. Какие из нижеприведенных гематологических признаков соответствуют костномозговой фазе компенсаторных реакций при острой кровопотере:

- а) гипохромия эритроцитов;
- б) появление в крови лизированных форм эритроцитов (шизоцитов);
- в) ретикулоцитоз;
- г) повышенное количество в крови полихроматофильных эритроцитов;
- д) появление в крови эритроцитов с тельцами Гейнца;
- е) пойкилоцитоз;
- ж) появление в крови единичных нормобластов;
- з) появление в крови эритроцитов с базофильной зернистостью.

2. Какие из нижеперечисленных анемий относятся к гипорегенераторным:

- а) хроническая постгеморрагическая анемия;
- б) анемия при дифиллоботриозе;
- в) наследственная сидеробластная анемия;
- г) наследственный микросфероцитоз;
- д) острая постгеморрагическая анемия;
- е) гемолитическая болезнь новорожденного.

3. Для каких анемий характерен микроцитоз эритроцитов:

- а) железодефицитная анемия;
- б) острая постгеморрагическая анемия;
- в) β -талассемия;
- г) наследственный микросфероцитоз;

д) аутоиммунная гемолитическая анемия, обусловленная тепловыми антителами;

е) гипопластическая анемия;

ж) наследственная сидеробластная анемия.

4. К характерным клинико-лабораторным проявлениям внутрисосудистого гемолиза относятся:

а) желтуха;

б) гемоглобинурия;

в) увеличение содержания гаптоглобина в крови;

г) выраженная спленомегалия;

д) умеренная гепатомегалия;

е) микросфероцитоз эритроцитов;

ж) лихорадка;

з) шизоцитоз эритроцитов;

и) пониженное содержание непрямого билирубина в крови;

к) гемосидеринурия;

л) почернение мочи.

5. Развитие наследственных гемолитических анемий может быть обусловлено:

а) врожденным дефектом мембранных белков эритроцитов;

б) дефицитом железа;

в) синтезом аномального гемоглобина S в эритроидных клетках;

г) недостаточностью глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в эритроцитах;

д) дефицитом витамина B₁₂;

е) отравлением гемолитическими ядами;

ж) хронической кровопотерей;

з) вирусной инфекцией;

и) несовместимостью эритроцитов матери и плода по Rh-антигенам;

к) синтезом нестабильного гемоглобина в эритроидных клетках;

л) механическим повреждением мембран эритроцитов.

6. Гемолитическая болезнь новорожденного характеризуется:

а) нарушением синтеза гликанфосфатидилинозитола в эритроцитах;

б) несовместимостью эритроцитов матери и плода по антигенам системы Rh;

в) желтушностью кожи и слизистых оболочек с последующим ее исчезновением через 2–3 сут после рождения;

г) желтушностью кожи и слизистых оболочек с последующим ее исчезновением через 3–4 нед после рождения;

д) бледностью кожи и слизистых оболочек;

е) ретикулоцитопенией;

ж) ретикулоцитозом;

з) появлением нормобластов в периферической крови;

и) гепато- и спленомегалией;

к) поражением центральной нервной системы;

л) развитием отека.

7. Какие из нижеперечисленных анемий сопровождаются гипербилирубинемией:

а) наследственный микросфероцитоз;

б) железодефицитная анемия;

в) B_{12} -дефицитная анемия;

г) ночная пароксизмальная гемоглобинурия;

д) наследственная сидеробластная анемия;

е) гипопластическая анемия;

ж) серповидно-клеточная анемия;

8. Какие состояния и факторы могут играть важную роль в развитии железодефицитной анемии:

а) острая кровопотеря;

б) хроническая кровопотеря;

в) алкоголизм;

г) резекция желудка;

д) хронический энтерит;

е) дефицит фолиевой кислоты;

ж) беременность;

з) голодание.

9. Гематологическими признаками хронической постгеморрагической анемии являются:

а) увеличение содержания в крови полихроматофильных эритроцитов;

б) ретикулоцитоз;

- в) ретикулоцитопения;
 - г) увеличение содержания в крови эритроцитов с базофильной зернистостью;
 - д) микроцитоз эритроцитов;
 - ж) макроцитоз эритроцитов;
 - з) пойкилоцитоз эритроцитов;
 - и) гипохромия эритроцитов;
 - к) гиперхромия эритроцитов;
 - л) лейкопения;
 - м) нейтрофильный лейкоцитоз со сдвигом влево.
10. Какие анемии характеризуются снижением общей железосвязывающей способности сыворотки крови:
- а) апластическая анемия;
 - б) B_{12} -дефицитная анемия;
 - в) острая постгеморрагическая анемия;
 - г) железодефицитная анемия;
 - д) сидеробластная анемия, обусловленная свинцовой интоксикацией;
 - е) β -талассемия;
 - ж) фолиево-дефицитная анемия;
 - з) анемия хронических заболеваний.
11. Перечислите состояния и факторы, которые могут обуславливать развитие мегалобластной анемии:
- а) дефицит железа;
 - б) дефицит витамина B_{12} ;
 - в) увеличение продукции эритропоэтина;
 - г) удаление желудка;
 - д) инвазия широким лентецом;
 - е) массивные кровоизлияния;
 - ж) прием оральных контрацептивов;
 - з) недостаточность транскобаламина II;
 - и) гипотиреоз.
12. К клинико-гематологическим проявлениям мегалобластной B_{12} -дефицитной анемии относятся:
- а) атрофия сосочков языка;
 - б) извращение вкуса и обоняния;
 - в) сухость кожи;

- г) ломкость и выпадение волос;
- д) изменение походки;
- е) онемение конечностей, ощущение «ватных ног»;
- ж) гиперхромия эритроцитов;
- з) гипохромия эритроцитов;
- и) появление в крови гигантских гиперсегментированных нейтрофилов;
- к) микроцитоз эритроцитов;
- л) доминирование среди эритроцитов макро- и мегалоцитов;
- м) эритроциты с тельцами Жолли и кольцами Кабо;
- н) асинхронность созревания цитоплазмы и ядра эритроидных клеток.

Ответы к тестовым заданиям

- | | |
|----------------------------|-----------------------------|
| 1 — в, г, е, ж, з | 7 — а, в, г, ж |
| 2 — а, б, в | 8 — б, в, г, д, ж, з |
| 3 — а, в, г, ж | 9 — в, д, з, и, л |
| 4 — а, б, д, е, ж, з, к, л | 10 — а, з |
| 5 — а, в, к | 11 — б, г, д, ж, з |
| 6 — б, г, ж, з, и, к, л | 12 — а, д, е, ж, и, л, м, н |

Ситуационные задачи

Задача 1. Больной А., 51 год, находится в стационаре по поводу язвенной болезни (язва желудка). Состояние после профузного желудочного кровотечения. Больной ощущает слабость, головокружение, тошноту. При осмотре больного выявлены бледность кожи и слизистых, акроцианоз. Тоны сердца приглушены.

Анализ крови:

содержание гемоглобина — 80 г/л;

количество эритроцитов — $2,5 \cdot 10^{12}/л$;

цветовой показатель — 0,96;

количество ретикулоцитов — 11‰;

общее количество лейкоцитов — $12,0 \cdot 10^9/л$;

количество тромбоцитов — $400 \cdot 10^9/л$.

В мазке крови: среди эритроцитов преобладают нормоциты, степень гемоглобинизации клеток в пределах нормы.

Назовите вид анемии. Какой фазе компенсаторных реакций соответствует данная картина крови? Дайте характеристику анемии по степени тяжести, цветовому показателю, типу кроветворения, способности костного мозга к регенерации.

Задача 2. Больная Ж., 17 лет. Поступила в клинику с жалобами на физическую усталость, постоянную сонливость, частые головные боли и обильные меноррагии.

Анализ крови:

Содержание гемоглобина — 60 г/л;

Количество эритроцитов — $3,0 \cdot 10^{12}/л$;

Цветовой показатель — 0,60;

Количество ретикулоцитов — 4‰;

Общее количество лейкоцитов — $7,4 \cdot 10^9/л$;

Количество тромбоцитов — $170 \cdot 10^9/л$.

В мазке крови: выраженный анизоцитоз (нормоциты и микроциты) и гипохромия эритроцитов.

Содержание железа в сыворотке крови — 4 мкмоль/л.

Назовите вид анемии. Дайте ее характеристику по степени тяжести, цветовому показателю, диаметру эритроцитов, содержанию железа в сыворотке крови, типу кроветворения, эритропоэтической активности костного мозга.

Задача 3. Больной Б., 5 лет, поступил в клинику с жалобами на боли в левом подреберье. У ребенка башенный квадратный череп, микрофтальмия. Мизинцы укорочены. Кожа и слизистые желтушны. При осмотре ротовой полости: высокое небо, неправильное расположение зубов. Отмечается спленомегалия.

Анализ крови:

содержание гемоглобина — 100 г/л;

количество эритроцитов — $3,5 \cdot 10^{12}/л$;

цветовой показатель — 0,86;

количество ретикулоцитов — 15‰;

общее количество лейкоцитов — $7,0 \cdot 10^9/л$;

количество тромбоцитов — $190 \cdot 10^9/л$;

уровень сывороточного железа — 39 мкмоль/л.

В мазке крови: выраженный анизоцитоз (микроцитоз), пойкилоцитоз (мишеневидные эритроциты) и анизохромия эритроцитов.

Осмотическая резистентность эритроцитов повышена.

В костном мозге — признаки гиперплазии эритроидного ростка.

Примечание. У отца при анализе крови также были обнаружены мишеневидные эритроциты.

Назовите вид анемии. Каков механизм ее развития? Дайте характеристику анемии по патогенезу, степени тяжести, цветовому показателю, диаметру эритроцитов, содержанию сывороточного железа, типу кроветворения, регенеративной активности костного мозга.

Задача 4. Новорожденный П., родился доношенным от второй беременности. У ребенка бледная желтушная кожа, определяются отечность подкожной клетчатки, асцит, гепато- и спленомегалия.

Анализ крови:

содержание гемоглобина — 76 г/л;

количество эритроцитов — $2,8 \cdot 10^{12}$ /л;

цветовой показатель — 0,81;

количество ретикулоцитов — 30‰;

общее количество лейкоцитов — $29,0 \cdot 10^9$ /л;

количество тромбоцитов — $78 \cdot 10^9$ /л.

В мазке крови: выраженный анизоцитоз (обнаруживаются нормоциты, макроциты) и пойкилоцитоз эритроцитов, большое количество полихроматофилов, полихроматофильных и оксифильных нормобластов.

Содержание непрямого билирубина в сыворотке крови — 156 мкмоль/л. Моча темного цвета.

Сыворотка крови матери содержит антирезусные антитела (антитела к D-антигену эритроцитов). Прямая проба Кумбса с эритроцитами новорожденного — положительная.

Назовите вид анемии, объясните механизм развития. Дайте ее характеристику по степени тяжести, цветовому показателю, диаметру эритроцитов, типу кроветворения, типу гемолиза, способности костного мозга к регенерации.

Задача 5. Больная Н., 32 года. Жалуется на приступы, возникающие после переохлаждения и начинающиеся с болей в спи-

не, ногах, головной боли, общего недомогания. Затем появляется озноб с подъемом температуры до $38-39^{\circ}\text{C}$, боли в животе, сопровождающиеся тошнотой и рвотой, через несколько недель появляется черная моча. Объективно: кожа бледная, склеры и слизистые слегка желтушны, гепато- и спленомегалия.

Анализ крови:

содержание гемоглобина — 92 г/л;

количество эритроцитов — $2,7 \cdot 10^{12}/\text{л}$;

цветовой показатель — 1,02;

количество ретикулоцитов — 15‰;

общее количество лейкоцитов — $4,5 \cdot 10^9/\text{л}$;

количество тромбоцитов — $120 \cdot 10^9/\text{л}$;

СОЭ — 24 мм/ч.

В мазке крови: анизо-, пойкилоцитоз, микросфероцитоз эритроцитов.

Прямая проба Кумбса положительная. Обнаружены IgA к Р-антигену эритроцитов.

Назовите вид анемии. Дайте ее характеристику по патогенезу, степени тяжести, цветовому показателю, диаметру эритроцитов, типу кроветворения, регенеративной способности костного мозга.

Задача 6. Больная Ж., 16 лет. Поступила в клинику с жалобами на физическую усталость и психическую вялость, сердцебиение, шум в ушах, сонливость, извращение вкуса и обоняния, нарушение менструального цикла. При обследовании больной обнаружены алебастровая бледность кожи с ярким румянцем на лице, трофические изменения ногтей и волос.

Анализ крови:

содержание гемоглобина — 65 г/л;

количество эритроцитов — $3,0 \cdot 10^{12}/\text{л}$;

цветовой показатель — 0,65;

количество ретикулоцитов — 5‰;

общее количество лейкоцитов — $7,3 \cdot 10^9/\text{л}$;

количество тромбоцитов — $240 \cdot 10^9/\text{л}$.

В мазке крови: выраженный анизоцитоз (нормоциты и микроциты) и гипохромия эритроцитов.

Содержание железа в сыворотке крови — 4 мкмоль/л.

Назовите вид анемии. Дайте ее характеристику по степени тяжести, цветовому показателю, диаметру эритроцитов, содержанию железа в сыворотке крови, типу кроветворения, способности костного мозга к регенерации.

Задача 7. Больной Л., 50 лет. Поступил в клинику с жалобами на боли в животе, расстройство стула, слабость, утомляемость, саднение в ротовой полости, чувство ползания мурашек в ногах. При осмотре больного выявлены бледность кожи, воспаление сосочков языка.

Анализ крови:

содержание гемоглобина — 65 г/л;

количество эритроцитов — $1,5 \cdot 10^{12}/л$;

цветовой показатель — 1,3;

количество ретикулоцитов — 3‰;

общее количество лейкоцитов — $4,0 \cdot 10^9/л$;

количество тромбоцитов — $150 \cdot 10^9/л$.

В мазке крови: выраженный анизоцитоз (микроциты, нормоциты, макроциты, единичные мегалоциты), пойкилоцитоз, гиперхромия эритроцитов, эритроциты с тельцами Жолли, гиперсегментоядерные нейтрофилы.

Назовите вид анемии. Дайте ее характеристику по степени тяжести, цветовому показателю, диаметру эритроцитов, типу кроветворения, способности костного мозга к регенерации.

Задача 8. Больной С., 50 лет, рентгенолог. Поступил в клинику с жалобами на слабость, головокружение, нарушение концентрации внимания, частые носовые кровотечения и простудные заболевания.

Анализ крови:

содержание гемоглобина — 60 г/л;

количество эритроцитов — $1,7 \cdot 10^{12}/л$;

цветовой показатель — 1,05;

количество ретикулоцитов — 1‰;

общее количество лейкоцитов — $3,3 \cdot 10^9/л$;

количество тромбоцитов — $100 \cdot 10^9/л$.

В мазке крови: анизоцитоз и пойкилоцитоз эритроцитов.

В стерильном пунктате: большое количество плазматических и тучных клеток, снижение количества эритронормобла-

стов, гранулоцитов, полное отсутствие мегакариоцитов. В трепанобиоптате: замещение кроветворной ткани костного мозга жиром.

Назовите вид анемии. Дайте ее характеристику по степени тяжести, цветовому показателю, диаметру эритроцитов, типу кроветворения, способности костного мозга к регенерации.

Литература

1. *Абрамов М.Г.* Гематологический атлас. М.: Медицина, 1985. 344 с.
2. *Воробьев П.А.* Анемический синдром в клинической практике. М.: Ньюдиамед, 2001. 168 с.
3. *Гольдберг Е.Д.* Справочник по гематологии. Томск: Изд-во Том. ун-та, 1989. 468 с.
4. *Гусева С.А., Вознюк В.П.* Болезни системы крови: 2-е изд., доп., перераб. М.: МЕЛпресс-информ, 2004. 488 с.
5. *Демидова А.В.* Анемии: Учебно-практическое пособие. М.: Оверлей, 1993. 88 с.
6. *Долгов В.В., Луговская С.А., Морозова В.Т. и др.* Лабораторная диагностика анемий. Тверь: Губернская медицина, 2001. 88 с.
7. *Исследование системы крови в клинической практике* / Под ред. Г.И. Козинца, В.А. Макарова. М.: Триада-Х, 1997. 480 с.
8. *Клетки крови и костного мозга. Цветной атлас* / Под ред. Г.И. Козинца. М.: Медицинское информационное агентство, 2004. 203 с.
9. *Лолор-младший Г., Фишер Т., Адельман Д.* Клиническая иммунология и аллергология: Пер. с англ. М.: Практика, 2000. 806 с.
10. *Луговская С.А., Почтарь М.Е.* Гематологический атлас. М.; Тверь: Триада, 2004. 227 с.
11. *Новик А.А., Богданов А.Н.* Анемии (от А до Я). Руководство для врачей. СПб.: Нива, 2004. 320 с.
12. *Новицкий В.В., Рязанцева Н.В., Степовая Е.А. и др.* Атлас. Клинический патоморфоз эритроцита. Томск: Изд-во Том. ун-та; М.: ГЭОТАР-МЕД, 2003. 208 с.
13. *Основы клинической гематологии: Справочное пособие* / Под ред. В.Г. Радченко. СПб.: Диалект, 2003. 304 с.

14. *Папаян А.В., Жукова Л.Ю.* Анемии у детей. СПб.; М.; Харьков; Минск: Питер, 2001. 390 с.
15. *Погорелов В.М., Козинец Г.И., Ковалева Л.Г.* Лабораторно-клиническая диагностика анемий. М.: Медицинское информационное агентство, 2004. 173 с.
16. *Руководство по гематологии: В 3 т. / Под ред. А.И. Воробьёва.* М.: Ньюдиамед, 2002. Т. 1. 280 с.
17. *Шиффман Ф.Дж.* Патофизиология крови. Пер. с англ. М.; СПб.: БИНОМ-«Невский диалект», 2000. 448 с.
18. *Camitta B.M.* Aplastic anemia. Pathogenesis, diagnosis, treatment and prognosis // New Engl. J. Med. 1982. Vol. 306. P. 645–712.
19. *Hematology: basic principles and practice / Ed. by R. Hofman et al., 3 td ed.* Churchfull Livingstone, 2000. 2584 p.
20. *Ludwig H., Fritz E., Leitgeb C. et al.* Prediction of response to erythropoietin treatment in chronic anemia of cancer // Blood. 1994. Vol. 84. P. 1056–1059.
21. *Petz L.D.* Drug-induced immune heamolytic anemia // Clin. Immunol. 1980. Vol. 9. P. 455.
22. *Rodak B.F.* Diagnostic hematology. Philadelphia: Launders, 1995. 720 p.
23. *Toh B.H., van Driel I.R., Gleeson P.A.* Mechanisms of disease: pernicious anemia // New Engl. J. Med. 1997. Vol. 337. P. 1441–1447.
24. *Young N.S., Maciejewski J.* The pathophysiology of acquired aplastic anemia // New Engl. J. Med. 1997. Vol. 336. P. 1365–1370.

Глава 4

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ЛЕЙКОЦИТОЗОВ, ЛЕЙКЕМОИДНЫХ РЕАКЦИЙ И ЛЕЙКОПЕНИЙ

Лейкоцитозы, лейкемоидные реакции и лейкопении относятся к числу реактивных состояний системы крови, характеризующихся нарушением количественного состава лейкоцитов в периферической крови и нередко сопровождающихся изменением их морфологических и функциональных свойств.

В свою очередь, качественные дефекты лейкоцитов могут формироваться не только на фоне изменений их количества, но и носить автономный характер. В некоторых случаях их идентификация имеет решающее значение в дифференциальной диагностике отдельных видов патологии белой крови.

Дефекты морфологии и функций лейкоцитов

Патологические морфологические формы лейкоцитов подразделяются на регенеративные (молодые формы клеток, обнаруживающиеся в норме только в костном мозге) и дегенеративные (деструктивно измененные). Характеристика морфологических признаков молодых и зрелых форм лейкоцитов здорового человека представлена в табл. 4.1.

Дегенеративные изменения лейкоцитов (табл. 4.2, рис. 4.1) могут быть следствием прямого или опосредованного повреждающего воздействия болезнетворных факторов на зрелые клетки крови, а также дисрегуляции кроветворной функции костного мозга в результате патологии гемопоэтического микроокружения и ранних клеток-предшественниц гемопоэза.

Признаки дегенерации в лейкоцитах могут обнаруживаться при инфекции, воспалении, в условиях экзогенной и эндогенной интоксикации, при ожогах, действии ионизирующего

Морфологические формы

Тип клетки	Внешний диаметр клетки, мкм	Особенности ядра клетки			
		Форма	Расположение	Окраска/структура хроматина	Ядрышки
Миело-бласт	12–20	Округлая	Центральное	Светло-фиолетовая/мелкосетчатая	2–3 (отчетливые)
Промие-лоцит	18–25 (самая крупная клетка ряда)	Округлая или овальная	Центральное или периферическое	Светло-фиолетовая/мелкосетчатая	1–2 (нечеткие)
Миелоцит	10–18	Округлая, овальная или почкообразная	Центральное или периферическое	Фиолетовая/грубая	Отсутствуют
Мета-миелоцит	10–12	Бобовидная или подковообразная	Центральное	Фиолетовая/мелкоглыбчатая	Отсутствуют
Палочко-ядерный гранулоцит	10–16	Форма палочки, иногда с сужениями	Центральное или периферическое	Фиолетовая/крупноглыбчатая	Отсутствуют
Сегментоядерный гранулоцит	10–15	Состоит из 2–5 сегментов, соединенных перемычками	Центральное или периферическое	Фиолетовая/крупноглыбчатая	Отсутствуют
Моноцит	14–20	Округлая, бобовидная, лопастная, палочковидная, сегментированная	Центральное или периферическое	Светло-фиолетовая/рыхлая, крупно-сетчатая	Отсутствуют
Большой гранулированный лимфоцит	12–15	Округлая или бобовидная	Центральное или периферическое	Фиолетовая/глыбчатая	Отсутствуют
Средний лимфоцит	8–12	Округлая или бобовидная	Центральное или периферическое	Фиолетовая/глыбчатая	Отсутствуют
Малый лимфоцит	7–8	Округлая или бобовидная	Центральное или периферическое	Темно-фиолетовая/глыбчатая	Отсутствуют
Плазмо-цит	8–12	Округлая или бобовидная	Центральное или периферическое	Фиолетовая, колесовидная (по типу спиц в колесе)	Отсутствуют

Т а б л и ц а 4.1

лейкоцитов здорового человека

Особенности цитоплазмы клетки			
Величина/ окраска	Перинуклеарная зона просветле- ния/вакуоли	Зернистость	
		Азурофильная	Специфическая
Узкая/синяя	Нечеткая/ отсутствуют	Отсутствует или единичные гранулы	Отсутствует
Умеренная/ голубовато-синяя	Четкая/ отсутствуют	Обильная на ядре и в цито- плазме	Может быть одновременно всех типов (нейтрофильная, эозинофильная и базофиль- ная), один из которых пре- валирует
Широкая/ голубовато- розовая	Отсутствуют	Отсутствует	Нейтрофильная: мелкие (пы- левидные) фиолетово-корич- невые гранулы. Эозинофильная: «красная икра»; крупные округлые оранжевые гранулы одинако- вого размера и формы; Базофильная — «черная ик- ра»; переменные по вели- чине и форме темно-фиоле- товые (черные) гранулы (в цитоплазме и на ядре)
Широкая/розовая	Отсутствуют	Отсутствует	
Умеренная/ розовая	Отсутствуют	Отсутствует	
Умеренная/ розовая	Отсутствуют	Отсутствует	
Широкая/ дымчатая	Отсутствуют	Обильная, пылевидная	Отсутствует
Широкая/ голубая	Отсутствуют	Единичные мел- кие или крупные гранулы	Отсутствует
Умеренная/ светло-голубая	Отсутствуют	Отсутствует	Отсутствует
Узкая (в форме полумесяца)/ светло-голубая	Отсутствуют	Отсутствует	Отсутствует
Широкая/ голубовато-синяя или серая	Отсутствуют	Отсутствует	Отсутствует

излучения, недостаточности витамина В₁₂ и фолиевой кислоты, агранулоцитозе, лейкомоидных реакциях, лейкозах, миелодиспластическом синдроме, на фоне терапии цитостатическими препаратами, глюкокортикоидами и др. Кроме того, дефекты морфологии лейкоцитов могут иметь наследственную природу (табл. 4.3).

Таблица 4.2

Виды дегенеративных изменений лейкоцитов

Вариант патологических изменений	Морфологическая характеристика
Анизоцитоз	Уменьшение (микроформы) и увеличение (макрополициты — гигантские лейкоциты) размеров клеток
Патология ядра: гиперсегментация	Увеличение числа сегментов в ядрах нейтрофильных гранулоцитов (свыше 5 при норме 2—5), эозинофилов (свыше 3 при норме 2—3)
гипосегментация	Нарушение сегментации ядра зрелых гранулоцитов: уменьшение количества сегментов или полное отсутствие сегментации (ядра округлые или в форме эллипса, боба, земляного ореха, гимнастической гири, пенсне)
пикноз	Уплотнение хроматина
рексис	Распад ядра на отдельные части, исчезновение межсегментарных нитей в зрелых гранулоцитах
фрагментация	Образование фрагментов ядерного хроматина (микроядер)
лизис	Растворение ядерной оболочки
хроматинолиз	Разжижение хроматина
вакуолизация	Бесцветные пятна («дырки») в хроматине
голые ядра лимфоцитов	Лимфоциты без цитоплазмы
формы Риддера	Двухъядерные лимфоциты
тени Боткина—Гумпрехта	Раздавленные ядра лимфоцитов
Патология цитоплазмы: истощение зернистости	Дефицит или отсутствие специфических гранул
токсогенная зернистость	Крупные грубые базофильные гранулы
азурофильная зернистость	Множественные, перекрывающие ядра клеток или единичные крупные азурофильные гранулы в цитоплазме зрелых лейкоцитов
вакуолизация	Бесцветные пятна («дырки») в цитоплазме
тельца Князькова—Деле	Округлые или овальные аморфные включения голубого цвета
палочки Ауэра	Палочки вишневого цвета (слипшаяся азурофильная зернистость)



Рис. 4.1. Патогенетические факторы функциональных дефектов нейтрофилов

Таблица 4.3

Наследственные синдромы, связанные с дефектами морфологии лейкоцитов

Вариант изменений	Тип наследования	Характеристика
Гиперсегментация ядер нейтрофилов	Аутосомно-доминантный	Увеличение числа сегментов в ядрах нейтрофилов свыше 5
Макрополицитоз (гигантские нейтрофилы)	Аутосомно-доминантный	Увеличение размеров (до 17 мкм) и гиперсегментация ядер нейтрофилов
Дефицит специфических гранул в нейтрофилах	Аутосомно-рецессивный	Ядра нейтрофилов гипосегментированные (имеют не более двух сегментов) с мелкодисперсным хроматином без признаков конденсации, в цитоплазме — обилие азурофильной зернистости при отсутствии специфических гранул
Семейная вакуолизация лейкоцитов	Аутосомно-доминантный	Наличие в цитоплазме гранулоцитов, моноцитов, лимфоцитов и плазматических клеток крупных (2–5 мкм) липидсодержащих вакуолей
Аномалия Альдера—Рейли	Аутосомно-доминантный	Появление в зрелых нейтрофилах, эозинофилах, моноцитах и лимфоцитах обильной грубой азурофильной зернистости вследствие нарушения метаболизма мукополисахаридов
Аномалия Пельгера—Хюэца	Аутосомно-доминантный	Гипосегментация ядер нейтрофилов вследствие дефекта генетического контроля постмитотической стадии созревания гранулоцитов с формированием псевдомиелоцитов (нейтрофилов с округлыми крупнолыбчатыми, пикнотичными ядрами), клеток с ядрами в форме гири, пенсне, палочки, двусегментированных клеток
Аномалия Мэя—Хегглина	Аутосомно-доминантный	Присутствие в цитоплазме нейтрофилов крупных (до 5 мкм) округлых или эллипсовидных включений бледно-синего цвета, увеличение размеров тромбоцитов (гигантские кровяные пластинки)
Синдром Фехтнера	Аутосомно-доминантный	Присутствие в цитоплазме нейтрофилов и эозинофилов включений, сходных по морфологии с таковыми при аномалии Мэя—Хегглина, но более мелких размеров и бледной окраски и (в отличие от включений Мэя—Хегглина) не содержащих пучков филаментов и не окруженных мембраной
Синдром Чедиака—Хигаси	Аутосомно-рецессивный	См. табл. 4.11

Нарушения функциональных свойств лейкоцитов также могут быть наследственными и приобретенными. Они связаны главным образом с дефектами маргинации, адгезии, миграции и микробицидных свойств клеток (рис. 4.1).

Лейкоцитозы

Лейкоцитоз — это увеличение в периферической крови общего количества лейкоцитов (ОКЛ) (более $9 \cdot 10^9/\text{л}$) или числа их отдельных морфологических форм выше верхней границы нормы. Лейкоцитоз носит временный характер и исчезает вместе с причиной, обусловившей его развитие.

Классификация. Лейкоцитозы подразделяются по этиологии, патогенезу, характеру изменений в лейкоцитарной формуле (в зависимости от увеличения содержания в крови тех или иных морфологических форм лейкоцитов), характеру и степени ядерного сдвига (табл. 4.4–4.6).

Т а б л и ц а 4.4

Классификация лейкоцитозов по этиологии и патогенезу

Этиологический вариант лейкоцитоза	Характеристика	Механизм развития
Физиологические лейкоцитозы		
Алиментарный	После приема пищи, особенно богатой белками	Перераспределительный
Миогенный	После интенсивной физической нагрузки	
Эмоциональный	При активации симпатической нервной системы (при возбуждении, тревоге, стресс-реакции и др.)	
Ортостатический	При перемещении тела из вертикального положения в горизонтальное	
Предменструальный	За 4–5 дней до наступления меноррагий	Стимуляция образования и созревания лейкоцитов в костном мозге
Беременных	С 5–6-го мес беременности с дальнейшим прогрессированием по мере приближения родов	
Рожениц	На 2-й нед после родов	
Новорожденных	В течение первых 2 нед жизни	
Патологические лейкоцитозы		
Ангидремический	При недостаточном поступлении или избыточной потере жидкости	Сгущение крови
Инфекционный	При бактериальных, вирусных, грибковых инфекциях	Стимуляция образования и созревания лейкоцитов в костном мозге
Воспалительный	На фоне острых и хронических воспалительных процессов	
Токсогенный	При экзогенных и эндогенных интоксикациях	
Постгеморрагический	На 4–5-й день после острой кровопотери	
Новообразовательный	При раке и саркомах	
Лейкемический	При гемобластозах	

О к о н ч а н и е т а б л. 4.4

Этиологический вариант лейкоцитоза	Характеристика	Механизм развития
Центрогенный	При шоковых состояниях, эпилепсии, агонии, гипоксии мозга, послеоперационный и др.	Перераспределительный

Примечание. В основе перераспределительного механизма развития лейкоцитозов лежит выход зрелых форм лейкоцитов из маргинального пула и органов-депо в циркуляцию.

Т а б л и ц а 4.5

Классификация лейкоцитозов по изменениям в лейкоцитарной формуле

Вариант лейкоцитоза	Характеристика	Некоторые причины развития
Нейтрофилия	Нейтрофилов (созревающих и зрелых) >70%	В физиологических условиях — после приема пищи, эмоциональном напряжении и др.; в условиях патологии — при инфекциях, воспалительных процессах, укусах ядовитых насекомых, после острой кровопотери и др.
Эозинофилия	Эозинофилов >5%	При аллергических заболеваниях (бронхиальная астма, крапивница и др.), паразитозах (описторхоз, лямблиоз и др.), коллагенозах (ревматизм, дерматомиозит и др.), некоторых инфекциях (скарлатина, сифилис, туберкулез и др.), эндокринопатиях (гипофизарная кахексия, микседема и др.), злокачественных новообразованиях, гемобластозах (хронический миелолейкоз, лимфогранулематоз и др.), лекарственной терапии (антибиотики, сульфаниламиды и др.), действии ионизирующего излучения, ожогах и обморожениях. Выделяют также идиопатические и наследственные формы
Базофилия	Базофилов >1%	При анафилактических и реактивных аллергических реакциях (крапивница, отек Квинке, пищевая и лекарственная аллергия и др.), вакцинации, гемолитических анемиях, гемофилии, эндокринопатиях (сахарный диабет, микседема и др.), хроническом миелолейкозе и др.
Моноцитоз	Моноцитов >9%	При инфекциях (туберкулез, корь, краснуха и др.) и воспалительных заболеваниях (неспецифический язвенный колит, спру, коллагенозы и др.), гемобластозах, раке молочной железы и яичников, после спленэктомии и др.
Лимфоцитоз	Лимфоцитов >45%	В физиологических условиях — у вегетарианцев, после физических нагрузок, у детей в возрасте 1–10 лет и др.; в патологических условиях — при инфекциях (герпетическая инфекция, гепатиты и др.), эндокринопатиях (акромегалия, евнухоидизм и др.), аутоиммунных заболеваниях (ревматоидный артрит, гломерулонефрит, аутоиммунный тиреоидит и др.), раке, саркомах, лимфопролиферативных гемобластозах (хронический лимфолейкоз, болезнь Сезари, миеломная болезнь и др.)

Т а б л и ц а 4.6

Классификация нейтрофилий в зависимости от характера и степени ядерного сдвига

Вариант ядерного сдвига	Характеристика
Без сдвига	Увеличение общего числа нейтрофилов за счет сегментоядерных форм клеток ($>70\%$)
Со сдвигом влево:	
гипорегенеративным	Увеличение общего числа нейтрофилов за счет сегментоядерных ($>65\%$) и палочкоядерных ($>5\%$) форм клеток
регенеративным	Увеличение общего числа нейтрофилов за счет сегментоядерных ($>65\%$), палочкоядерных ($>5\%$) форм клеток и метамиелоцитов ($>0,5\%$)
гиперрегенеративным	Увеличение общего числа нейтрофилов за счет сегментоядерных ($>65\%$), палочкоядерных ($>5\%$) форм клеток, метамиелоцитов ($>0,5\%$) и более молодых клеток (миелоцитов, промиелоцитов, миелобластов)
дегенеративным	Увеличение общего числа нейтрофилов за счет сегментоядерных ($>65\%$) и палочкоядерных ($>5\%$) форм клеток, появление в крови нейтрофилов с признаками дегенерации (вакуолизация ядра и цитоплазмы, кариорексис и др.)
Со сдвигом вправо	Увеличение общего числа нейтрофилов за счет сегментоядерных форм клеток ($>70\%$) на фоне повышенного ($>5\%$) содержания в крови гиперсегментированных нейтрофилов

Диагностика лейкоцитозов включает осмотр, опрос пациента и лабораторное обследование (рис. 4.2) с целью определения характера и степени выраженности лейкоцитарной реакции крови, а также причины ее развития.

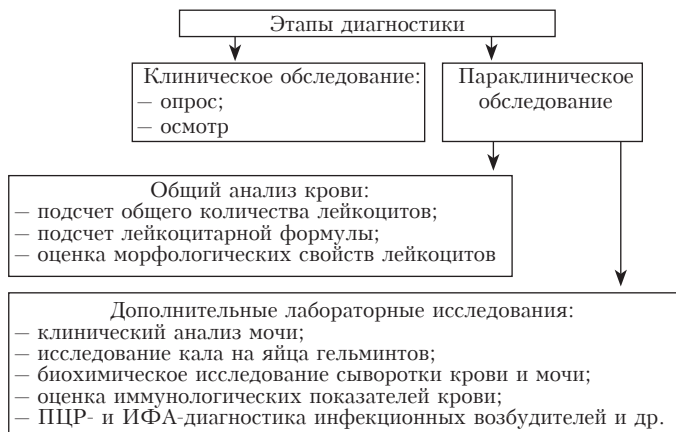


Рис. 4.2. Алгоритм лабораторной диагностики лейкоцитозов

Лейкемоидные реакции

Лейкемоидная реакция (ЛР) — это реактивное состояние системы крови, характеризующееся изменениями в периферической крови, сходными с таковыми при лейкозах, а именно: увеличением в крови общего количества лейкоцитов в среднем до $30 \cdot 10^9/\text{л}$ и выше и появлением незрелых форм лейкоцитов.

Дифференциальные критерии ЛР и лейкоза. Лейкемоидная реакция в отличие от лейкоза — реактивное состояние системы крови, характеризующееся обратным развитием с нормализацией картины крови при устранении этиологического фактора или стабилизации основного патологического процесса. При ЛР нет метаплазии (механизм развития ЛР определяется особенностью патогенеза основного заболевания).

В основе *классификации* лейкемоидных реакций лежит цитоморфологический принцип, согласно которому их разделяют на два типа.

1. Миелоидные ЛР.

Нейтрофильные ЛР:

- псевдобластная ЛР,
- промиелоцитарная ЛР,
- ЛР с картиной хронического миелолейкоза.

Большая эозинофилия крови.

2. Лимфомоноцитарные ЛР.

С картиной острого лимфобластного лейкоза;

Острый инфекционный лимфоцитоз;

Стресс-лимфоцитоз;

Персистирующий лимфоцитоз;

Реактивный моноцитоз.

Каждый из типов ЛР имеет свои этиологические особенности и гематологические признаки, свойственные только данной форме реактивного состояния системы крови (табл. 4.7).

К методам *диагностики* ЛР относятся клиническое обследование пациента, исследование показателей периферической крови и костного мозга. С целью установления причин развития ЛР и дифференциальной их диагностики с лейкозами применяют дополнительные лабораторные методы (рис. 4.3, табл. 4.8, 4.9).

Т а б л и ц а 4.7

Варианты лейкомоидных реакций и их характеристика

Вариант ЛР	Причины развития	Картина крови
<i>Миелоидный тип</i>		
Нейтрофильные:		
псевдобластная	«Выход» из иммунного агранулоцитоза. Первичный туберкулез.	Появление большого числа бластоподобных клеток
промиелоцитарная	Тяжелые токсикоинфекции (дифтерия, столбняк и др.). Сепсис	Появление большого числа типичных промиелоцитов
с картиной хронического миелолейкоза	Инфекции (бактериальные, вирусные, грибковые). Воспаление (хронические васкулиты, дерматиты, подагра, миозиты и др.). Злокачественные новообразования (рак молочной железы, почек, печени, легких). Интоксикация (при эндокринных расстройствах, нарушениях метаболизма, уремии, отравлениях)	Нейтрофилия с гиперрегенеративным ядерным сдвигом влево при нормальном содержании эозинофилов и базофилов, дегенеративные изменения нейтрофилов (токсогенная зернистость, кариопикноз (рис. 4.9))
Большая эозинофилия крови	Паразитозы (филяриоз, лямблиоз, описторхоз и др.). Аллергические заболевания (бронхиальная астма, аллергический ринит, лекарственная аллергия при приеме антибиотиков, сульфаниламидов, ацетилсалициловой кислоты). Коллагенозы (ревматоидный артрит, узелковый периартериит, системная склеродермия, системная красная волчанка). Пристеночный фибропластический эндокардит (эндокардит Леффлера). Иммунодефицитные синдромы (синдром Вискотта—Олдрича, дефицит IgA). Злокачественные новообразования (рак щитовидной железы, желудка, гипернефroidный рак почки, лимфогранулематоз, лимфома Ходжкина, хронический миелолейкоз). Выделяют также идиопатические и наследственные формы	Увеличение числа (>15%) и изменение морфологии (вакуолизация ядра, цитоплазмы) эозинофилов

О к о н ч а н и е т а б л . 4.7

Вариант ЛР	Причины развития	Картина крови
<i>Лимфомоноцитарный тип</i>		
С картиной острого лимфо-бластного лейкоза	Инфекционный мононуклеоз	ОКЛ — $20 \cdot 10^9/\text{л}$ и более, увеличение числа лимфоцитов и моноцитов, атипичных мононуклеаров ($>10\%$) (рис. 4.8), нейтропения
Острый инфекционный лимфоцитоз	Энтеровирусная инфекция, вызванная вирусом Коксаки. Болезнь от кошачьих царапин. Бактериальные инфекции (коклюш, персиниоз, туберкулез и др.) Протозойная инвазия (токсоплазмоз, малярия)	ОКЛ — $15\text{--}100 \cdot 10^9/\text{л}$ и более, лимфоцитоз ($>60\%$) без изменений морфологии клеток, моноцитоз
Стресс-лимфоцитоз	Сердечно-сосудистая патология (кардиоваскулярный коллапс, острая сердечная недостаточность, инфаркт миокарда, септический шок и др.). Реакции гиперчувствительности немедленного типа. Хирургические вмешательства. Травмы. Эпилепсия	Кратковременный лимфоцитоз до $5 \cdot 10^9/\text{л}$ и более
Персистирующий лимфоцитоз	Ревматоидный артрит. Злокачественные новообразования (лимфома). Хронические воспалительные заболевания (саркоидоз, гранулематоз Вегенера и др.). Реакции гиперчувствительности замедленного типа. Гипоспленизм. Курение	Число лимфоцитов $3,8 \cdot 10^9/\text{л}$ и более
Реактивный моноцитоз	Инфекционно-воспалительные заболевания (туберкулез, хронический пиелонефрит, саркоидоз, СПИД). Злокачественные новообразования (рак молочной железы и яичников, лимфо-гранулематоз, миеломная болезнь)	Увеличение числа моноцитов (>800 клеток/мл)

Т а б л и ц а 4.8

Дифференциальные критерии диагностики лейкемоидной реакции и ХМЛ

Дифференциальный признак	Лейкемоидная реакция	ХМЛ
Этиологический фактор	Определяется	Не определяется
Общее состояние больного	Ухудшение	Может быть удовлетворительным
Размеры селезенки	В норме	Спленомегалия
ОКЛ, $\cdot 10^9/\text{л}$	20–50	20–150
Характер ядерного сдвига нейтрофилов	Гиперрегенеративный сдвиг влево	
Признаки дегенерации нейтрофилов	Определяются	
Количество базофилов в крови	В норме	Повышено
Количество эозинофилов в крови	В норме	Повышено
Количество тромбоцитов	В норме	В норме или повышено
Активность щелочной фосфатазы в нейтрофилах	Повышена	Снижена
Нормализация картины крови	После устранения причины	На фоне цитостатической терапии
Костный мозг: общая клеточность	В норме или умеренно повышена	Значительно повышена
количество миелобластов	В норме	Повышено
количество эозинофилов и базофилов	В норме	Повышено
количество мегакариоцитов	В норме	В норме или повышено
Ph-хромосома в клетках миелоидного ряда крови и костного мозга	Отсутствует	Определяется у 90% пациентов

Т а б л и ц а 4.9

Дифференциальные критерии диагностики лейкемоидной реакции промиелоцитарного типа и острого промиелоцитарного лейкоза (ОПЛ)

Дифференциальный признак	Лейкемоидная реакция	ОПЛ
Анемия	Не определяется	Определяется
Тромбоцитопения	Не определяется	Определяется
Геморрагический синдром	Не определяется	Определяется
Полиморфизм промиелоцитов	Не определяется	Определяется
Реакция промиелоцитов на кислые сульфатированные мукополисахариды	Отрицательная	Положительная



Рис. 4.3. Алгоритм лабораторной диагностики лейкомоидных реакций

Лейкопении

Лейкопения — это уменьшение общего числа лейкоцитов (менее $4 \cdot 10^9/\text{л}$) или числа их отдельных морфологических форм ниже нижней границы нормы.

Классификация лейкопений определяется разделением их в зависимости от характера изменений в лейкоцитарной формуле и по происхождению (рис. 4.4).

В основе патогенеза лейкопений лежат три механизма: угнетение лейкопоэтической функции костного мозга, повышенное внутриклеточное или внутрисосудистое разрушение лейкоцитов и перераспределение клеток с задержкой их в органах-депо (рис. 4.5).

Наибольшее значение в клинической практике отводится нейтропениям — самой распространенной группе лейкопений. Необходимо различать термины «нейтропения» и «гранулоцитопения». Гранулоцитопения — это снижение суммарного абсолютного числа гранулоцитов (нейтрофилов, эозинофилов, базофилов) в 1 мкл крови, нейтропения — уменьшение относительного или абсолютного числа нейтрофилов в крови. Агранулоцитоз — полное отсутствие гранулоцитов в периферической крови. Иногда этим термином обозначают тяжелую нейтропению.

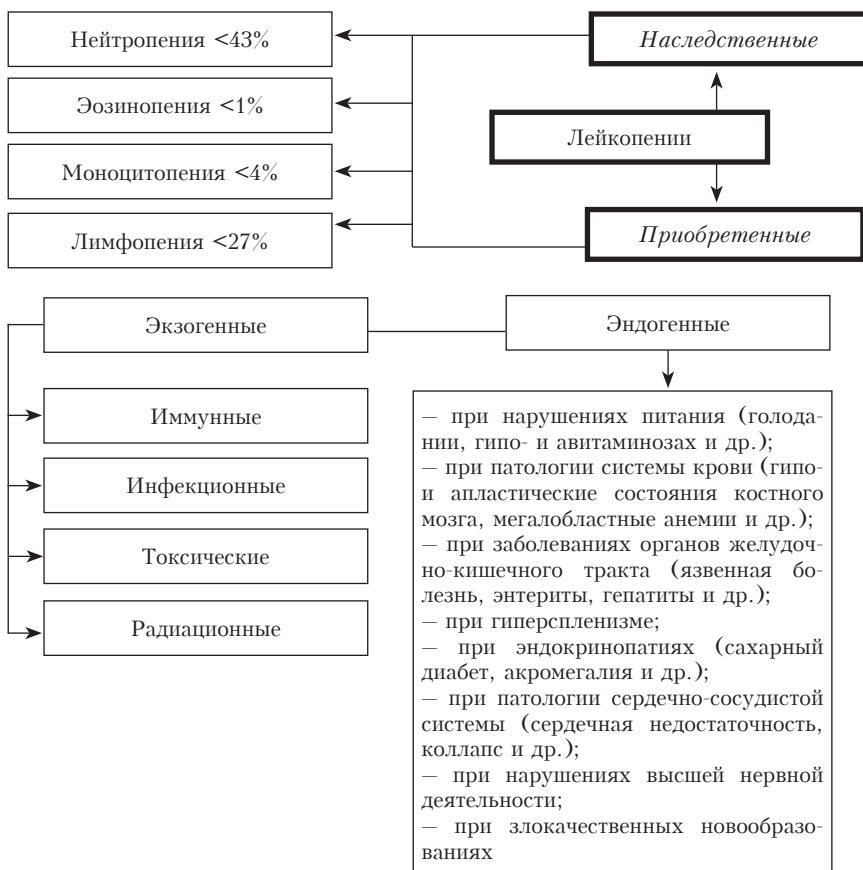


Рис. 4.4. Классификация лейкопений



Рис. 4.5. Патогенетические факторы лейкопений



Рис. 4.6. Алгоритм лабораторной диагностики лейкопений

Алгоритм диагностики лейкопений представлен на рис. 4.6, этиология, патогенез и клиничко-лабораторные признаки нейтропений и агранулоцитозов отражены в табл. 4.10–4.13.

Т а б л и ц а 4.10

Характеристика наследственных (врожденных) нейтропений без фенотипических аномалий

Вариант нейтропении	Тип наследования	Патогенез	Клинические проявления	Лабораторные признаки
Циклическая нейтропения	Аутосомно-доминантный	Нарушение образования сегментоядерных нейтрофилов вследствие: дефекта гемопоэтических клеток; патологии ГИМ; дефекта механизма обратной связи, контролирующего процесс образования, созревания нейтрофилов в костном мозге и их элиминации на периферию. Повышенное разрушение нейтрофилов	Решивающаяся температурная реакция, сочетающаяся с изъязвлением слизистых оболочек ротоглотки, поражением кожи (фурункулез, абсцессы), увеличением и болезненностью лимфоузлов, кишечными расстройствами и т.д.	Снижение числа нейтрофилов в крови через каждые (21 ± 3) дня в течение 3–6 дней до 20% в гемограмме и ниже при одновременном увеличении количества лимфоцитов, моноцитов и эозинофилов. После периода нейтропении отмечается сдвиг лейкоцитарной формулы влево. У 15% пациентов имеет место постоянная нейтропения (менее $2 \cdot 10^9/\text{л}$) с периодическим исчезновением нейтрофильных гранулоцитов из крови
Болезнь Костманна (инфантильный агранулоцитоз)	Аутосомно-рецессивный или аутосомно-доминантный	Нарушение образования нейтрофилов и задержка их созревания на стадии промиелоцита или миелоцита	У новорожденных — вялость, пониженный аппетит, задержка в прибавке массы тела, субфебрильная температура; в последующие возрастные периоды жизни — гнойничковые поражения кожи, рецидивирующие инфекции органов дыхания, мочевыводящих путей, кишечника	Снижение количества нейтрофилов в крови ($0-0,5 \cdot 10^9/\text{л}$) при нормальном или повышенном ОКЛ. В нейтрофилах — токсогенная зернистость, дефицит специфических гранул. Нередко отмечаются эозинофилия, моноцитоз. Характерным признаком служит «омолаживание» моноцитов (бластоподобные клетки). В костном мозге — увеличение числа промиелоцитов и миелоцитов, в части из них — обильная азурофильная зернистость

О к о н ч а н и е т а б л. 4.10

Вариант нейтропении	Тип наследования	Патогенез	Клинические проявления	Лабораторные признаки
Семейная доброкачественная нейтропения	Аутосомно-доминантный	Дефицит гранулоцитарных клеток-предшественниц в костном мозге	Как правило, отсутствуют, изредка могут отмечаться стоматит, фурункулез	Снижение ОКЛ, нейтропения в пределах $2,1-2,6 \cdot 10^9/\text{л}$
Доброкачественная нейтропения младенцев и детей	Врожденная нейтропения	Дефицит гранулоцитарных клеток-предшественниц в костном мозге. Задержка созревания миелоидных клеток на стадии миелоцита или метамieloцита	Проявляется на первом или втором году жизни повышенной заболеваемостью инфекциями с легким течением. Могут выявляться оральные, вагинальные или ректальные язвы. Выздоровление к 4-летнему возрасту	ОКЛ в пределах нормы, нейтропения до $2 \cdot 10^9/\text{л}$ и ниже, моноцитоз, эозинофилия. Костный мозг с нормальным или повышенным цитозом, резкое снижение количества палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов
Ретикулярный дисгенез (врожденная алейкия)	Аутосомно-рецессивный или рецессивный X-сцепленный	Нарушение пролиферации и дифференцировки клеток-предшественниц миело- и лимфопоэза. Аплазия тимуса. Гипоплазия лимфоидной ткани	Тяжелое течение бактериальных и вирусных инфекций. Наиболее часты диарея, пневмония, абсцессы, флегмоны, некрозы мягких тканей и др. 50% больных погибают в течение первых 2 нед жизни	Снижение ОКЛ в крови, абсолютная нейтропения, лимфопения, у части пациентов — анемия

Т а б л и ц а 4.11

Характеристика наследственных нейтропений с фенотипическими аномалиями

Вариант нейтропении	Тип наследования	Патогенез	Клинические проявления	Лабораторные признаки
Синдром Швахмана–Даймонда–Оски	Аутосомно-рецессивный	Дефект гемопоэтических и стромальных клеток костного мозга. Функциональный дефект нейтрофилов. Недостаточность секреторной функции поджелудочной железы	Низкорослость, метафизарная хондродисплазия, укорочение малой берцовой и лучевой костей, синдактилия, короткое мягкое небо и др. Характерны задержка общего развития, частые бактериальные инфекции, хронические рецидивирующие поносы, гипергликемия, метаболический ацидоз	В крови — нейтропения, анемия, тромбоцитопения. У части пациентов нейтропения определяется с раннего детства (до $1,5 \cdot 10^9 / \text{л}$ в 95% случаев), у других больных — только во взрослом возрасте. У 35% больных нейтропения имеет постоянный характер, у 65% пациентов — циклический (каждые 3 нед). Характерна гиперсегментация ядер и нарушение хемотаксиса нейтрофилов. В кале — стеаторея
Врожденный дискератоз (синдром Цинссера–Энгмена–Коула)	Аутосомно-рецессивный, аутосомно-доминантный или рецессивный X-сцепленный	Недостаточность костномозгового кроветворения	Сетчатая гиперпигментация лица, шеи и плеч, лейкоплакия слизистых оболочек, дистрофические изменения ногтей. В ряде случаев — аномалии и болезни глаз. У 5–15% пациентов — предрасположенность к развитию опухолевых заболеваний (сквамозно-клеточный рак, аденокарцинома желудка)	В крови нейтропения менее $1 \cdot 10^9 / \text{л}$, анемия, тромбоцитопения. В нейтрофилах увеличивается активность щелочной фосфатазы, в эритроцитах — содержание HbF. В костном мозге примерно у 43% больных — признаки аплазии

О к о н ч а н и е т а б л. 4.11

Вариант нейтропении	Тип наследо- вания	Патогенез	Клинические проявления	Лабораторные признаки
Синдром Чедиака— Хигаси	Аутосомно- рецессивный	Внутрикостномоз- говая деструкция нейтрофилов. Качественный и функциональный дефект лейкоцитов и тромбоцитов	Гипопигментация кожи и ра- дужной оболочки, фотофо- бия, нистагм, предрасполо- женность к бактериальным и грибковым инфекциям (ОРЗ, бронхит, пневмония, отит, синусит, абсцессы, инфекции мочевыводящих путей, ор- ганов желудочно-кишечного тракта и др.)	В крови на ранних стадиях нейтропения, в последующем — панцитопения. В нейтрофилах, эозинофилах, моноцитах, лим- фоцитах обнаруживаются гига- нтские (диаметром более 5 мкм) гранулы, проявляющие положи- тельную реакцию на пероксида- зу. Нарушение хемотаксиса и микробицидной функции лейко- цитов. Дефект плотных гранул в тромбоцитах. В костном мозге — признаки гиперплазии грану- лоцитарного ростка. В сыворот- ке крови — повышенное содер- жание лизоцима
Миелока- хексия	Аутосомно- рецессивный	Нарушение выво- ждения нейтро- филов из костно- го мозга в кровь. Сокращение про- должительности жизни нейтрофилов. Цитогенетическая аномалия нейтрофи- лов — тетраплоидия. Функциональный дефект нейтрофилов	Изменения скелета, ихтиоз, рецидивирующие заболевания бактериальной и вирусной этиологии	Лейкопения ($0,8-2,7 \cdot 10^9/\text{л}$), нейтропения ($0,2-0,4 \cdot 10^9/\text{л}$), на фоне инфекции — лейкоцитоз (иногда до $27,0 \cdot 10^9/\text{л}$), анемия. Костный мозг нормо- или гипер- клеточный за счет увеличения числа клеток миелоидного ряда. В зрелых нейтрофилах дефицит специфической зернистости и ва- куолизация цитоплазмы, пикноз и гиперсегментация ядер, выяв- ляются двухядерные клетки. Нарушение хемотаксиса и фаго- цитоза нейтрофилов

Т а б л и ц а 4.12

Дифференциальные критерии диагностики лекарственных агранулоцитозов

Критерии диагностики	Вид агранулоцитоза	
	Миелотоксический	Иммунный
Причины развития	Производные амидоприна, антипиреоидные средства, макролиды, фенотиазины, β-лактамы и др.	
Патогенез	Вследствие прямого повреждения клеток-предшественниц гемопоэза	Вследствие иммунного разрушения циркулирующих нейтрофилов
Начало	Постепенное	Острое
Клинические проявления	Лихорадка, язвенно-некротическое поражение слизистых оболочек ротоглотки и желудочно-кишечного тракта, некротическая энтеропатия	Лихорадка, озноб, крапивница, отек Квинке, изъязвление слизистых оболочек ротоглотки, верхних дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта, увеличение размеров лимфоузлов, печени и селезенки, грибковые инфекции
Связь с дозой медикамента	Присутствует	Отсутствует
Количество лейкоцитов	Снижение ОКЛ, нейтропения (до $0,1-0,2 \cdot 10^9/\text{л}$), моноцитоз, лимфоцитоз, увеличение числа плазматических клеток (только при иммунном агранулоцитозе)	
Количество тромбоцитов	Снижено	В норме
Анемия	Определяется	Не определяется
Картина костного мозга	Тотальное угнетение гемопоэза	Гипоплазия гранулоцитарного роста
Антилейкоцитарные антитела	Отсутствуют	Присутствуют

Т а б л и ц а 4.13
Характеристика приобретенных нейтропений, не связанных с приемом лекарственных препаратов

Вариант нейтропении	Причины развития	Патогенез	Клинические проявления	Лабораторные признаки
Аутоиммунная нейтропения	У младенцев и детей — не определены. У взрослых — ассоциация с аутоиммунными заболеваниями: синдромом Фелли; ревматоидным артритом; системной красной волчанкой	Разрушение зрелых циркулирующих нейтрофилов антинейтрофильным антителами (гуморальный механизм). Угнетение активированными Т-лимфоцитами образования и созревания (на поздних стадиях) нейтрофилов в костном мозге (клеточный механизм)	Повторные инфекции кожи и верхних отделов респираторного тракта, отит, диарея, приступы лихорадки неясного генеза, гепатопатия и спленомегалия	Нейтропения до $0,5-2,5 \cdot 10^9/\text{л}$, иногда до $0,1 \cdot 10^9/\text{л}$ и ниже. В костном мозге при гуморальном механизме развития нейтропении цитоз нормальный или повышенный, при клеточном — сниженный, задержка созревания нейтрофилов на стадии метамиелоцита. В сыворотке крови антитела к нейтрофилам
Парциальная белоклеточная аплазия	Тимома	Ингибиторное влияние IgG на КОЕ-ГМ. Опосредованные Т-клетками нарушение образования и задержка созревания миелоидных клеток на стадии промиелоцита	Частые бактериальные инфекции респираторного тракта, диарея	Лейкопения, агранулоцитоз, тромбоцитопения, в некоторых случаях — лимфопения, панцитопения. В костном мозге: полное отсутствие миелоидных клеток или резкое снижение числа (при угнетении дифференцировки клеток гранулоцитопоза) или отсутствие миелоцитов и более зрелых форм гранулоцитов. У 50% пациентов — аплазия эритроидного роста
Хроническая идиопатическая нейтропения	Не определены	Избыточная адгезия нейтрофилов на эндотелии-тах вследствие активации эндотелия с последующей миграцией гранулоцитов в ткани под влиянием ИЛ-8	Рецидивирующие инфекции кожи, слизистых оболочек ротовой полости и верхних отделов респираторного тракта, редко — пневмонии	Стойкая нейтропения $0,5 \cdot 10^9/\text{л}$ и ниже, другие показатели крови в пределах нормы. Костный мозг нормо- или гипоклеточный, иногда — отсутствие или снижение количества зрелых нейтрофилов. В сыворотке крови — повышенное содержание ИЛ-8, растворимых лейкоцитарных адгезивных молекул к эндотелию (sELAM, sICAM, sVCAM)

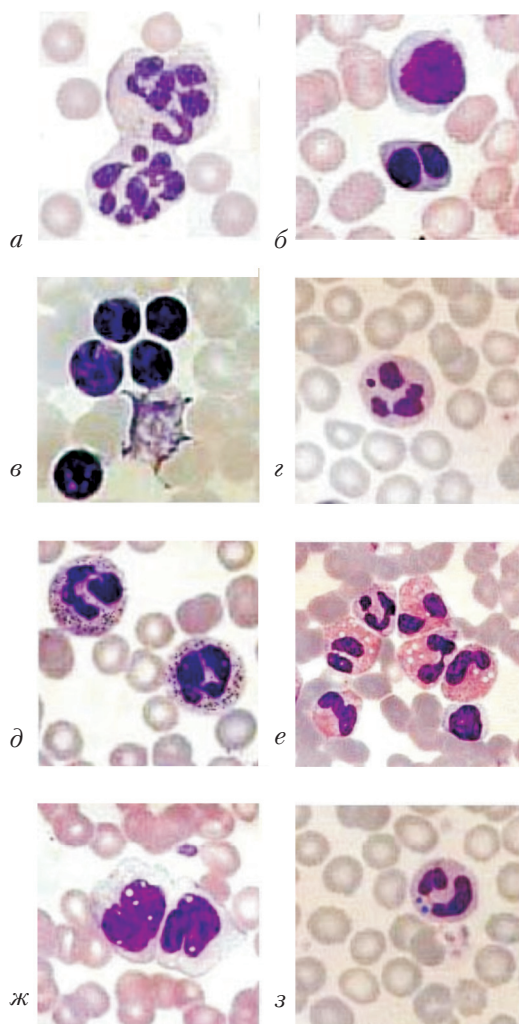


Рис. 4.7. Дегенеративные формы лейкоцитов: *а* — гигантские гиперсегментированные нейтрофилы; *б* — двухъядерный лимфоцит; *в* — голое ядро лимфоцита и тень Боткина–Гумпрехта; *г* — фрагментация ядра нейтрофильного гранулоцита; *д* — токсогенная зернистость в нейтрофилах; *е* — вакуолизация цитоплазмы эозинофилов; *ж* — вакуолизация ядер моноцитов; *з* — тельца Князькова–Деле в нейтрофиле. Окраска азур II–эозином. Ув. 900

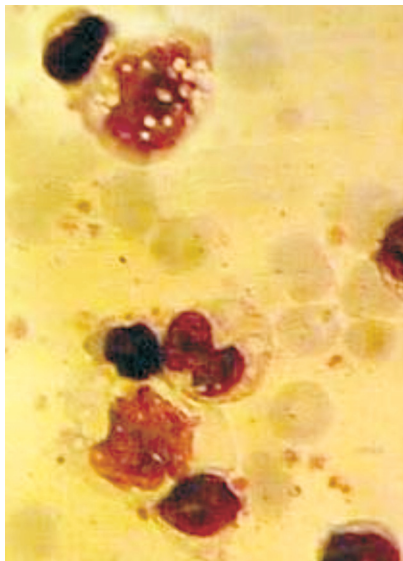


Рис. 4.8. Атипичные мононуклеары периферической крови при инфекционном мононуклеозе. Окраска азур II-эозином. Ув. 900

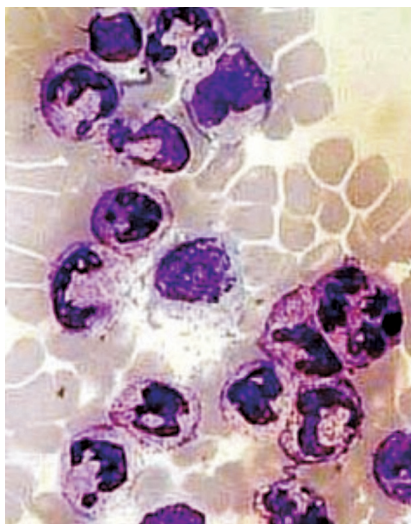


Рис. 4.9. Картина периферической крови при сепсисе. Окраска азур II-эозином. Ув. 900

Контрольные вопросы и задания

1. Дайте морфологическую характеристику типичных зрелых, созревающих и бластных форм лейкоцитов.
2. Перечислите патологические морфологические формы лейкоцитов. Назовите виды дегенеративных изменений лейкоцитов.
3. Каковы причины приобретенных нарушений морфологии лейкоцитов?
4. Назовите наследственные синдромы, связанные с дефектами морфологии лейкоцитов. Тип наследования, характеристика морфологических изменений клеток.
5. Перечислите наследственные (врожденные) и приобретенные дефекты функции лейкоцитов. Каковы основные патогенетические факторы их развития?
6. Понятие о лейкоцитозе. Критерии классификации лейкоцитозов.
7. Классификация лейкоцитозов по изменениям в лейкоцитарной формуле.
8. Назовите лабораторные признаки и причины развития нейтрофилии, эозинофилии, базофилии, лимфоцитоза и моноцитоза.
9. Классификация нейтрофилий в зависимости от характера и степени ядерного сдвига в лейкоцитарной формуле.
10. Охарактеризуйте физиологический и патологический лейкоцитозы: этиология и механизмы развития.
11. Представьте алгоритм лабораторной диагностики лейкоцитозов.
12. Лейкемоидные реакции (дайте определение понятия). Критерии различий лейкемоидных реакций и лейкозов.
13. Представьте алгоритм диагностики лейкемоидных реакций.
14. Лейкемоидные реакции миелоидного типа: нейтрофильные (псевдобластная, промиелоцитарная, с картиной хронического миелолейкоза), большая эозинофилия крови. Причины развития, лабораторные признаки.
15. Лейкемоидные реакции лимфомоноцитарного типа: с картиной острого лимфобластного лейкоза, острый инфекционный лимфоцитоз, стресс-лимфоцитоз, персистирующий лимфоцитоз,

реактивный моноцитоз. Причины развития, лабораторные признаки.

16. Дифференциальные критерии диагностики нейтрофильных лейкомоидных реакций и хронического миелолейкоза.

17. Каковы дифференциальные критерии диагностики лейкомоидной реакции промиелоцитарного типа и острого промиелоцитарного лейкоза?

18. Дайте определение понятий «лейкопения», «гранулоцитопения», «агранулоцитоз».

19. Представьте классификацию лейкопений.

20. Перечислите этиологические и патогенетические факторы развития лейкопений.

21. Представьте алгоритм лабораторной диагностики лейкопений.

22. Наследственные (врожденные) нейтропении без фенотипических аномалий: циклическая нейтропения, болезнь Костманна, семейная доброкачественная нейтропения, доброкачественная нейтропения младенцев и детей, ретикулярный дисгенез. Тип наследования, особенности патогенеза, клиническая характеристика, лабораторные признаки.

23. Наследственные нейтропении с фенотипическими аномалиями: синдром Швахмана—Даймонда—Оски, врожденный дискератоз, синдром Чедиака—Хигаси, миелокахексия. Тип наследования, особенности патогенеза, клиническая характеристика, лабораторные признаки.

24. Каковы дифференциальные критерии диагностики миелотоксического и иммунного лекарственных агранулоцитозов?

25. Приобретенные нейтропении, не связанные с приемом лекарственных препаратов: аутоиммунная нейтропения, парциальная белоклеточная аплазия, хроническая идиопатическая нейтропения. Причины развития, патогенез, клинико-лабораторные проявления.

Тесты для контроля знаний

1. В крови здорового человека содержатся:

а) миелобласты;

б) сегментоядерные нейтрофилы;

- в) моноциты;
- г) лимфоциты;
- д) нейтрофильные метамиелоциты;
- е) промиелоциты;
- ж) палочкоядерные нейтрофилы;
- з) эозинофилы.

2. К дегенеративным патологическим изменениям нейтрофильных гранулоцитов относятся:

- а) гиперсегментация ядра;
- б) появление миелобластов в периферической крови;
- в) кариопикноз;
- г) фрагментация ядра;
- д) увеличение числа палочкоядерных нейтрофилов в периферической крови (7% в лейкоцитарной формуле);
- е) тельца Князькова—Деле;
- ж) дегрануляция базофилов;
- з) вакуолизация ядра и цитоплазмы;
- и) хроматинолиз.

3. Причинами развития патологических лейкоцитозов служат:

- а) беременность;
- б) воспаление;
- в) острая кровопотеря;
- г) дегидратация организма;
- д) стресс;
- е) уремия;
- ж) шок;
- з) рак желудка.

4. Патогенетическими факторами лейкоцитозов являются:

- а) активация гранулоцитопоеза;
- б) повышенное разрушение лейкоцитов в крови;
- в) увеличение продукции эритропоэтина;
- г) перераспределение лейкоцитов с задержкой их в органах-депо;
- д) маргинация лейкоцитов;
- е) высвобождение лейкоцитов из органов-депо в кровяное русло;

- ж) мобилизация костномозгового резерва лейкоцитов;
 - з) активация гемопозиндуцирующего микроокружения.
5. В основе развития лейкопений лежат:
- а) угнетение процессов кроветворения в костном мозге;
 - б) разрушение лейкоцитов в крови и костном мозге антилейкоцитарными антителами;
 - в) высвобождение лейкоцитов из органов-депо в кровяное русло;
 - г) перераспределение лейкоцитов с задержкой их в органах-депо;
 - д) маргинация лейкоцитов;
 - е) переход лейкоцитов краевой зоны в циркуляцию;
 - ж) гиперспленизм;
 - з) стимуляция созревания лейкоцитов;
 - и) угнетение дифференцировки лейкоцитов.
6. Лабораторными признаками миелотоксического лекарственного агранулоцитоза служат:
- а) моноцитоз;
 - б) нейтропения;
 - в) увеличение числа плазматических клеток в крови;
 - г) присутствие антилейкоцитарных антител в крови;
 - д) лимфопения;
 - е) снижение общей клеточности костного мозга;
 - ж) увеличение числа клеток гранулоцитарного ряда в костном мозге;
 - з) снижение в костном мозге числа клеток гранулоцитарного, эритроидного и лимфоидного ростков.
7. К лабораторным проявлениям синдрома Чедиака—Хигаси относятся:
- а) присутствие в цитоплазме гранулоцитов аномальных гигантских гранул;
 - б) присутствие в цитоплазме нейтрофилов телец Князькова—Деле;
 - в) нарушение хемотаксиса нейтрофилов;
 - г) активация микробицидной активности нейтрофилов;
 - д) угнетение микробицидной активности нейтрофилов;
 - е) дефицит плотных гранул в тромбоцитах;

ж) повышенная концентрация лизоцима в сыворотке крови;

з) снижение концентрации лизоцима в сыворотке крови;

и) увеличение числа клеток гранулоцитарного ряда в костном мозге.

8. Наличие аномальных включений в цитоплазме нейтрофилов обнаруживается:

а) при аномалии Пельгера—Хюэта;

б) синдроме Чедиака—Хигаси;

в) наследственной гиперсегментации ядер нейтрофилов;

г) миелотоксическом лекарственном агранулоцитозе;

д) наследственном макрополицитозе;

е) аномалии Фехтнера;

ж) аномалии Альдера—Рейли;

з) аномалии Мэя—Хегглина.

9. Нарушения функции лейкоцитов могут быть обусловлены:

а) дефектами системы комплемента;

б) активацией миелопероксидазы в лейкоцитах;

в) повышенным уровнем экспрессии адгезивных молекул на лейкоцитах;

г) дефицитом специфических гранул в нейтрофилах;

д) стимуляцией дегрануляции тучных клеток с высвобождением медиаторов воспаления вследствие гипериммуноглобулинемии Е;

е) активацией глюкозо-6-фосфатазы в лейкоцитах;

ж) дефицитом глюкозо-6-фосфатазы в лейкоцитах;

з) дисфункцией актина.

10. Определите характер нарушений в системе белой крови и назовите патологические процессы и состояния, при которых возможны данные изменения, если известно:

а) ОКЛ — $25 \cdot 10^9/\text{л}$, лейкоцитарная формула, %

Бф	Эо	Нейтрофилы				Лф	Мон
		М	ММ	П/я	С/я		
0	2	0	0	2	31	50	15

Примечание. Здесь и далее: Бф — базофилы, Эо — эозинофилы, М — миелоциты, ММ — метамиелоциты, П/я — палочкоядерные, С/я — сегментоядерные, Лф — лимфоциты, Мон — моноциты.

б) ОКЛ – $15 \cdot 10^9/\text{л}$, лейкоцитарная формула, %

Бф	Эо	Нейтрофилы				Лф	Мон
		М	ММ	П/я	С/я		
0	4	5	7	8	60	10	6

в) ОКЛ – $0,75 \cdot 10^9/\text{л}$, лейкоцитарная формула, %

Бф	Эо	Нейтрофилы				Лф	Мон
		М	ММ	П/я	С/я		
0	0	0	0	0	10	85	5

г) ОКЛ – $12 \cdot 10^9/\text{л}$, лейкоцитарная формула, %

Бф	Эо	Нейтрофилы				Лф	Мон
		М	ММ	П/я	С/я		
0	0	0	0	0	82	10	8

д) ОКЛ – $18 \cdot 10^9/\text{л}$, лейкоцитарная формула, %

Бф	Эо	Нейтрофилы				Лф	Мон
		М	ММ	П/я	С/я		
0	0	0	0	15	70	12	3

е) ОКЛ – $3 \cdot 10^9/\text{л}$, лейкоцитарная формула, %

Бф	Эо	Нейтрофилы				Лф	Мон
		М	ММ	П/я	С/я		
0	0	0	0	0	35	55	10

ж) ОКЛ – $32 \cdot 10^9/\text{л}$, лейкоцитарная формула, %

Бф	Эо	Нейтрофилы				Лф	Мон
		М	ММ	П/я	С/я		
0	68	0	0	0	20	10	2

з) ОКЛ – $21 \cdot 10^9/\text{л}$, лейкоцитарная формула, %

Бф	Эо	Нейтрофилы				Лф	Мон
		М	ММ	П/я	С/я		
0	0	0	6	12	72	10	0

Ответы к тестовым заданиям

- 1** – б, в, г, ж, з **6** – а, б, е, з
2 – а, в, г, е, з, и **7** – а, в, д, е, ж, и
3 – б, в, г, е, ж, з **8** – б, е, ж, з
4 – а, е, ж, з **9** – а, д, е, з, и
5 – а, б, г, д, ж, и

Ситуационные задачи

Задача 1. Больная Д., 30 лет. Поступила в стационар с жалобами на сильные боли в животе, боли при глотании. Температура тела 40°C . Две недели назад больная перенесла грипп с высокой температурой, приняла 10 таблеток амидопирина. Неделю назад был подъем температуры, больная приняла вновь таблетку этого препарата, появились озноб, лихорадка, боли в горле.

Анализ крови:

содержание гемоглобина — 98 г/л;

количество эритроцитов — $3,7 \cdot 10^{12}/\text{л}$;

ОКЛ — $0,13 \cdot 10^9/\text{л}$;

количество тромбоцитов — $400 \cdot 10^9/\text{л}$;

лейкоцитарная формула, %:

Бф	Эо	Нейтрофилы				Лф	Мон
		М	ММ	П/я	С/я		
0	0	0	0	0	0	100	0

Дайте мотивированное заключение о характере патологии системы крови.

Задача 2. Больной Ф., 56 лет, страдает маниакально-депрессивным психозом. Находясь в психиатрическом стационаре, в течение 3 мес регулярно принимал хлорпромазин. Постепенно стал отмечать появление язв на коже, боль в горле, периодическое повышение температуры тела. Присоединилась одышка, кашель, температура тела установилась на уровне $38,5\text{--}39,0^{\circ}\text{C}$. После обследования был поставлен диагноз двусторонней мелкоочаговой пневмонии, некротической ангины.

Анализ крови:

содержание гемоглобина — 96 г/л;

количество эритроцитов — $3,9 \cdot 10^{12}/\text{л}$;

ОКЛ — $1,2 \cdot 10^9/\text{л}$;

количество тромбоцитов — $140 \cdot 10^9/\text{л}$;

лейкоцитарная формула, %:

Бф	Эо	Нейтрофилы				Лф	Мон
		М	ММ	П/я	С/я		
0	0	0	0	0	1	85	14

Дайте мотивированное заключение о характере патологии системы крови.

Задача 3. Больная К., 42 года, страдает системной красной волчанкой. Почувствовала ухудшение состояния: температура тела 38,5 °С, слабость, головная боль, боль в горле при глотании, болезненные изъязвления на коже туловища. При осмотре врачом было обнаружено язвенно-некротическое поражение ротоглотки.

Анализ крови:

содержание гемоглобина — 110 г/л;

количество эритроцитов — $3,7 \cdot 10^{12}/л$;

ОКЛ — $2,5 \cdot 10^9/л$;

количество тромбоцитов — $120 \cdot 10^9/л$;

лейкоцитарная формула, %:

Бф	Эо	Нейтрофилы				Лф	Мон
		М	ММ	П/я	С/я		
0	0	0	0	0	7	74	19

Дайте мотивированное заключение о характере патологии системы крови.

Задача 4. К врачу обратилась мать больной К., 2 года, с жалобами на наличие у ребенка повышенной температуры тела, боли в горле при глотании, кровоточивость десен, частые дефекации, прогрессирующую потерю массы тела. Со слов матери, девочка склонна к простудным заболеваниям (6–7 раз в год), нередко отмечаются носовые кровотечения. При объективном обследовании больной врачом отмечена низкорослость ребенка, признаки астенизации, бледность кожи и слизистых, язвенно-некротическое поражение мягкого неба и миндалин, кожи, петехиальная сыпь на коже голеней, кровоподтеки в области правого бедра и на ягодицах.

Анализ крови:

содержание гемоглобина — 72 г/л;

количество эритроцитов — $2,8 \cdot 10^{12}/л$;

ОКЛ — $1,8 \cdot 10^9/л$;

количество тромбоцитов — $48 \cdot 10^9/л$;

лейкоцитарная формула, %:

Бф	Эо	Нейтрофилы				Лф	Мон
		М	ММ	П/я	С/я		
0	6	0	0	0	26	53	15

Примечание. Стерильный пунктат гипоклеточный. При обследовании кала на содержание жира обнаружена стеаторея.

Дайте мотивированное заключение о патологии системы крови.

Задача 5. Больной Ж., 5 лет, госпитализирован с симптомами острого бронхита. Объективно: альбинизм, признаки гипергидроза, гнойничковое поражение кожи, петехиальная сыпь, припухлость и болезненность лимфоузлов шейной группы. Со слов матери, у ребенка часто отмечаются носовые кровотечения, кровоточивость десен после чистки зубов, приема пищи.

Анализ крови:

содержание гемоглобина — 96 г/л;

количество эритроцитов — $4,0 \cdot 10^{12}/л$;

ОКЛ — $2,3 \cdot 10^9/л$;

количество тромбоцитов — $180 \cdot 10^9/л$;

лейкоцитарная формула, %:

Бф	Эо	Нейтрофилы				Лф	Мон
		М	ММ	П/я	С/я		
0	2	0	0	2	56	34	6

Примечание. В цитоплазме нейтрофилов и лимфоцитов обнаружены крупные аномальные гранулы.

Иммунологическое исследование функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов позволило выявить нарушение хемотаксиса, снижение фагоцитарной активности клеток и увеличение доли незавершенного фагоцитоза. Определено увеличение времени кровотечения по Дьюку (до 14 мин).

Дайте мотивированное заключение о патологии системы крови.

Задача 6. Пациент М., 3 года, житель Норвегии. С рождения имеет склонность к гнойничковым инфекциям, простудным заболеваниям.

Анализ крови:

содержание гемоглобина — 110 г/л;

количество эритроцитов — $3,6 \cdot 10^{12}/\text{л}$;

ОКЛ — $4,1 \cdot 10^9/\text{л}$;

количество тромбоцитов — $160 \cdot 10^9/\text{л}$;

лейкоцитарная формула, %:

Бф	Эо	Нейтрофилы				Лф	Мон
		М	ММ	П/я	С/я		
0	23	0	0	0	2	43	32

Примечание. Отмечается «омолаживание» моноцитов (встречаются бластоподобные формы клеток). В костном мозге обнаружено снижение количества клеток гранулоцитарного ряда, большинство из них — промиелоциты (26%) с обильной азурофильной зернистостью.

Дайте мотивированное заключение о патологии системы белой крови.

Задача 7. На профилактическом осмотре при анализе крови у больной Б., 17 лет, было выявлено наличие нейтрофильных и эозинофильных гранулоцитов с ядрами округлой, гантелевидной и бисегментированной формы при крайне скудном содержании обычных сегментоядерных клеток. При тщательном изучении аномальных клеток было обнаружено, что хроматин в них располагается глыбками, сконденсирован.

Анализ крови:

содержание гемоглобина — 131 г/л;

количество эритроцитов — $3,9 \cdot 10^{12}/\text{л}$;

ОКЛ — $6,8 \cdot 10^9/\text{л}$;

количество тромбоцитов — $280 \cdot 10^9/\text{л}$;

лейкоцитарная формула, %:

Бф	Эо	Нейтрофилы				Лф	Мон
		М	ММ	П/я	С/я		
0	2	0	0	1	8	31	7

Примечание. Круглоядерных нейтрофилов — 5%, нейтрофилов с гантелевидными и бисегментированными ядрами — 46%.

Дайте мотивированное заключение о патологии системы белой крови.

Задача 8. Больной С., 8 лет, был госпитализирован с симптомами интоксикации, язвенно-некротическим поражением ротоглотки, увеличением паховых, подмышечных и шейных лимфатических узлов, селезенки и печени. На коже ребенка была обнаружена папулезная сыпь, пастозность вокруг лимфатиче-

ских узлов. Лимфоузлы эластичные, подвижные, безболезненные.

Анализ крови:

содержание гемоглобина — 127 г/л;

количество эритроцитов — $4,3 \cdot 10^{12}/л$;

ОКЛ — $12,3 \cdot 10^9/л$;

количество тромбоцитов — $260 \cdot 10^9/л$;

лейкоцитарная формула, %:

Бф	Эо	Нейтрофилы				Лф	Мон
		М	ММ	П/я	С/я		
0	2	0	0	2	16	36	12

Примечание. В крови обнаружены плазматические клетки (6%), атипичные мононуклеары (26%).

Дайте мотивированное заключение о патологии системы белой крови.

Литература

1. *Абрамов М.Г.* Гематологический атлас. М.: Медицина, 1985. 344 с.
2. *Алексеев Н.А.* Клинические аспекты лейкопений, нейтропений и функциональных нарушений нейтрофилов. СПб.: Фолиант, 2002. 416 с.
3. *Гольдберг Е.Д.* Справочник по гематологии. Томск: Изд-во Том. ун-та, 1989. 468 с.
4. *Гусев С.А., Вознюк В.П.* Болезни системы крови: 2-е изд., доп., перераб. М.: МЕЛпресс-информ, 2004. 488 с.
5. *Змушко Е.И., Белозеров Е.С., Митин Ю.А.* Клиническая иммунология. СПб., 2001. 576 с.
6. *Клетки крови и костного мозга.* Цветной атлас / Под ред. Г.И. Козинца. М.: Медицинское информационное агентство, 2004. 203 с.
7. *Лолор-младший Г., Фишер Т., Адельман Д.* Клиническая иммунология и аллергология: Пер. с англ. М.: Практика, 2000. 806 с.
8. *Луговская С.А., Почтарь М.Е.* Гематологический атлас. М.; Тверь: Триада, 2004. 227 с.
9. *Основы клинической гематологии: Справочное пособие* / Под ред. В.Г. Радченко. СПб.: Диалект, 2003. 304 с.

10. *Патофизиология: Учебник для медицинских вузов* / Под ред. В.В. Новицкого, Е.Д. Гольдберга. Томск: Изд-во Том. ун-та, 2001. 716 с.
11. *Руководство по гематологии: В 3 т.* / Под ред. А.И. Воробьева. М.: Ньюдиамед, 2002. Т. 1. 280 с.
12. *Шиффман Ф.Дж.* Патофизиология крови. Пер. с англ. М.; СПб.: Бином — «Невский диалект», 2000. 448 с.
13. *Auner H., Klintschar M., Beham-Schmid C. et al.* Chronic idiopathic neutropenia — a preleukemic disorder? // *Blood*. 1998. Vol. 92. № 10. P. 208–211.
14. *Beutler E.B., Coller B.S., Lichtman M.A. et al.* Hematology. Sixth Edition. New York, 2001. 1941 p.
15. *Dunzendorfer S., Schratzberger P., Reinisch N. et al.* Secretoneurin, a novel neuropeptide is a potent chemoattractant for human eosinophils // *Blood*. 1998. Vol. 91. № 5. P. 1527–1532.
16. *Gudmundsson G.H., Agerberth B.* Neutrophil antibacterial peptides, multifunctional effector molecules in the immune system // *J. Immunol. Method*. 1999. Vol. 223. № 1–2. P. 45–54.
17. *Hartman K., La Rassa V., Rothwell S. et al.* Antibodies to myeloid precursor cells in autoimmune neutropenia // *Blood*. 1994. Vol. 84. № 2. P. 625–633.
18. *Kwak Y., Lankowsky P., Karayalcin G.* Childhood neutropenias: a fifteen year experience // *Blood*. 1998. Vol. 92. № 1. P. 65–77.
19. *Rodak B.F.* Diagnostic hematology. Philadelphia: Saunders, 1995. 720 p.
20. *Simon H.U., Blaser K.* Inhibition of programmed eosinophil death: a key pathogenic event for eosinophilia? // *Immunol. Today*. 1995. Vol. 16. № 2. P. 53–55.

Глава 5

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ЛЕЙКОЗОВ. МИЕЛОДИСПЛАСТИЧЕСКИЕ СИНДРОМЫ

Определение понятия «лейкоз». Общие представления о лейкозогенезе

Одними из наиболее редких и опасных для жизни человека заболеваний системы крови являются лейкозы, относящиеся к группе гемобластозов — злокачественных новообразований кроветворной (миелоидной и лимфоидной) ткани. Помимо лейкозов к группе гемобластозов принадлежат также гематосаркомы (рис. 5.1).

Гематосаркома — это опухоль из кроветворных клеток внекостномозговой локализации, характеризующаяся очаговым опухолевым ростом. В структуре гематосарком выделяют лимфому Ходжкина и неходжкинские лимфомы.

Лейкоз — это опухоль, исходящая из кроветворных клеток костного мозга, в основе развития которой лежит неконтролируемый рост клеток с преобладанием процессов пролиферации над явлениями нормальной клеточной дифференцировки и образованием очагов патологического кроветворения в органах и тканях, в норме в гемопоэзе не участвующих. В отличие от лейкоцитозов, лейкемоидных реакций и лейкопений лейкоз является не реактивным состоянием, а болезнью системы крови.

Существует четыре признака лейкозов, позволяющих относить последние к числу опухолевых заболеваний.

1. Общность этиологических факторов в развитии лейкозов и других опухолевых заболеваний (ионизирующее излучение, химические вещества, вирусы, генетическая предрасположенность).
2. Неконтролируемый рост клеток.
3. Клеточная анаплазия.
4. Способность к метастазированию.

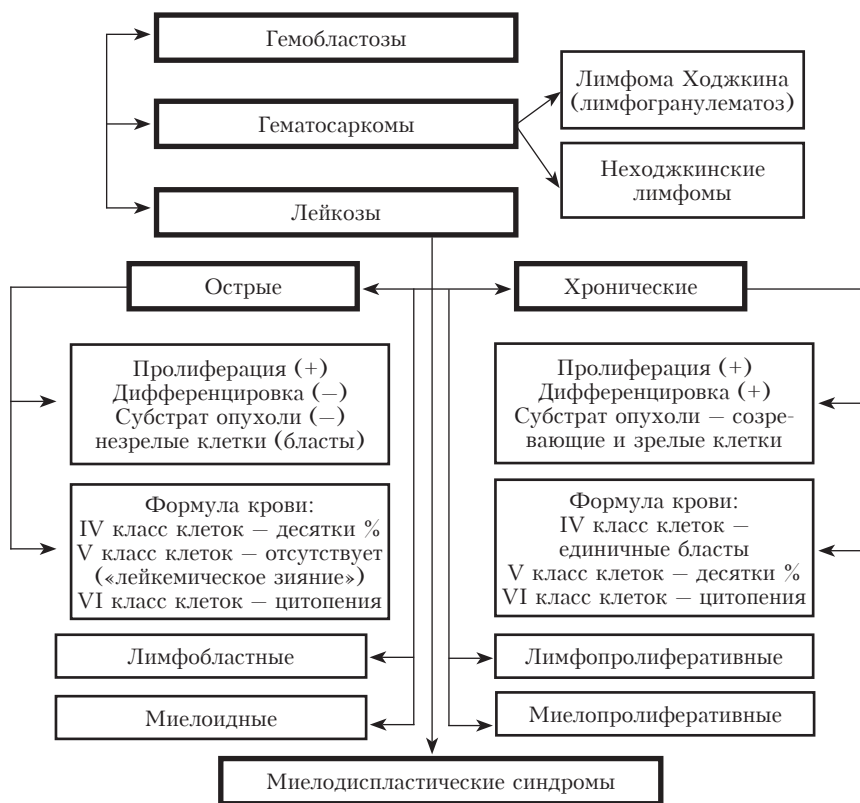


Рис. 5.1. Классификация гемобластозов

Патогенез. Согласно мутационно-клоновой теории, в основе происхождения лейкозов лежат мутация и опухолевая трансформация ранних клеток-предшественниц гемопоэза (клеток II и III классов) под влиянием лейкозогенного фактора (например, ионизирующей радиации, химических веществ, вирусов и др.).

В результате нарушаются процессы клеточного деления и дифференцировки, происходит выход кроветворных клеток из-под контроля регулирующих систем макроорганизма, что приводит к формированию клона опухолевых (лейкозных) клеток — потомков одной первоначально мутировавшей клетки. Лейкозные клетки инфильтрируют костный мозг, метастазируют в органы

и ткани, не участвующие в гемопоэзе, и образуют очаги экстрамедуллярного (внекостномозгового) кроветворения. Нестабильность генома лейкозных клеток при лейкозах обуславливает появление в первоначальном опухолевом клоне новых клонов опухолевых клеток, среди которых в процессе жизнедеятельности организма, а также под воздействием лечебных средств, применяемых в химиотерапии заболевания, отбираются наиболее автономные клоны, что сопровождается превращением моноклоновой опухоли в поликлоновую (злокачественную). На этой стадии развития лейкоза лейкозные клетки становятся устойчивыми к цитостатической терапии (табл. 5.1).

Т а б л и ц а 5.1

Основные стадии патогенеза лейкозов

Стадия	Характеристика
Инициация	Лейкозогенный фактор (радиация, вирусы и др.) действует на стволовые кроветворные клетки II–III классов, вызывая их опухолевую трансформацию в результате мутационного превращения протоонкогенов в онкогены и инактивации антионкогенов
Промоция	Активация и гиперпролиферация лейкозных клеток при действии промотора с формированием клона лейкозных клеток, идентичных по фенотипу и генотипу (моноклоновая стадия)
Инфильтрация	«Расселение» лейкозных клеток в костном мозге с угнетением нормального гемопоэза
Метастазирование	Образование очагов патологического кроветворения вне костного мозга за счет способности лейкозных клеток к инвазии, интра- и экстравазации, миграции по сосудистой системе, имплантации и пролиферации в различных тканях и органах
Прогрессия	Формирование множества клонов лейкозных клеток, различающихся по фенотипу и генотипу (поликлоновая стадия), и естественный отбор наиболее автономных из них, что ведет к озлокачествлению заболевания

По патогенетическому принципу лейкозы подразделяют на острые и хронические (см. рис. 5.1).

Острый лейкоз — это опухоль, исходящая из костного мозга, с полной утратой способности кроветворных клеток к дифференцировке. Субстратом опухоли при остром лейкозе являются клетки IV класса — бласты.

Хронический лейкоз — опухоль, исходящая из костного мозга, с частичной утратой способности кроветворных клеток к дифференцировке. Субстратом опухоли при хроническом лейкозе служат созревающие и зрелые клетки V и VI классов.

Клинические признаки. Общие нарушения в организме при лейкозах проявляются следующими синдромами: анемическим (головокружение, слабость, повышенная утомляемость, одышка и т.д.), геморрагическим (кровотечения из десен, носа, кишечника, кровоизлияния в жизненно важные органы), инфекционным (рецидивирующие инфекции вследствие угнетения фагоцитоза, микробицидной функции лейкоцитов, синтеза антител и т.д.), гиперпластическим (увеличение размеров и нарушение функции различных органов) и интоксикационным (тошнота, рвота, снижение аппетита, уменьшение массы тела и т.д.) (табл. 5.2).

Т а б л и ц а 5.2

Патогенез основных клинических синдромов лейкозов

Синдром	Механизм развития
Анемический	Угнетение нормального эритропоэза. Укорочение жизни эритроцитов вследствие дефекта клеток, образующихся вне костного мозга в результате компенсаторной активации экстрамедуллярного эритропоэза. Разрушение циркулирующих эритроцитов и их клеток-предшественниц антиэритроцитарными антителами
Геморрагический	Угнетение нормального мегакариоцитопоэза. Тромбоцитопатия. Разрушение циркулирующих тромбоцитов и их клеток-предшественниц антитромбоцитарными антителами. Дефекты плазменного звена гемостаза
Инфекционный	Угнетение нормального грануломоноцито- и лимфопоэза. Структурный и функциональный дефект клеток неспецифической резистентности (гранулоцитов, моноцитов, натуральных киллеров). Структурный и функциональный дефект клеток специфического иммунитета (лимфоцитов)
Гиперпластический	Увеличение размеров органов вследствие формирования в них лейкоэмических пролифератов
Интоксикационный	Отравление продуктами клеточного распада в результате гибели нормальных и лейкозных клеток

Методы диагностики лейкозов

Лабораторная диагностика лейкозов требует комплексного подхода. Она основывается прежде всего на анализе мазков периферической крови и костного мозга. Для дифференциальной диагностики отдельных форм и цитологических вариантов лейкозов применяют цитохимические, цитологические, иммунологические, цитогенетические и молекулярно-генетические методы (рис. 5.2).

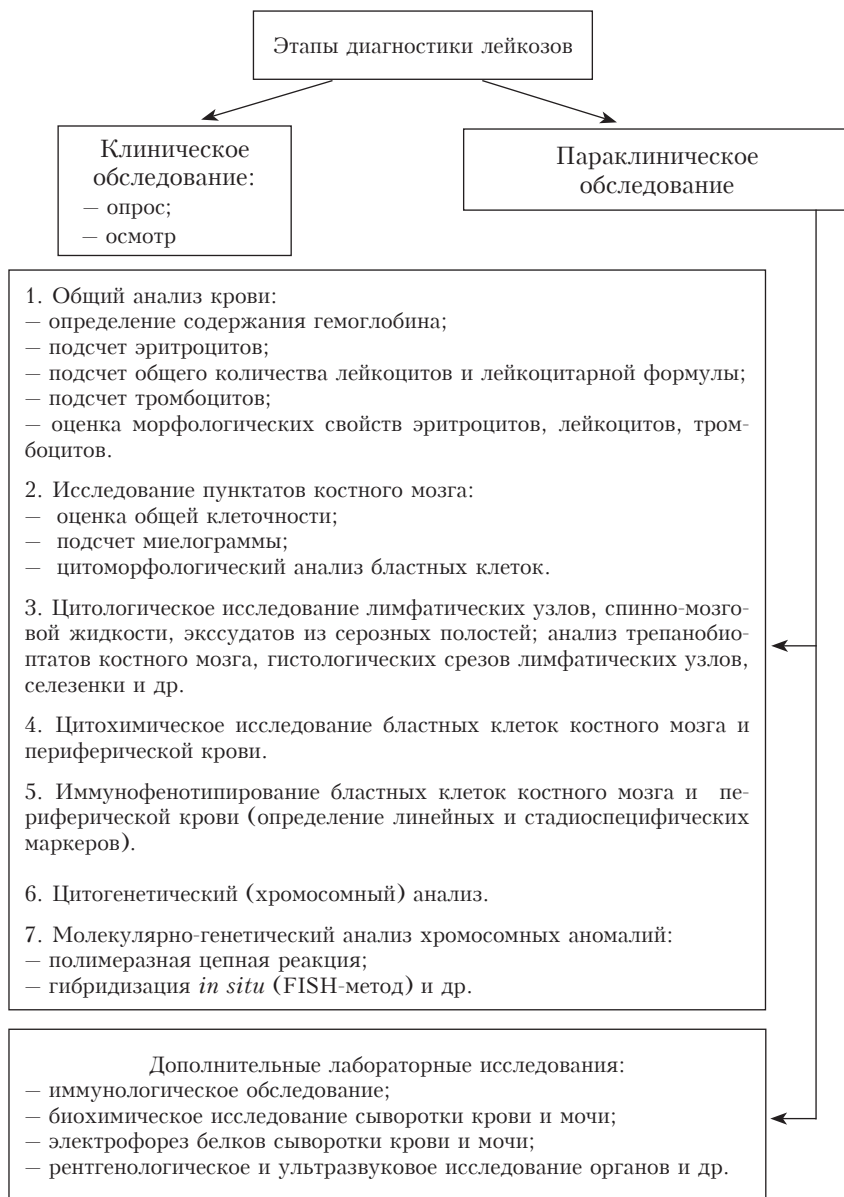


Рис. 5.2. Алгоритм лабораторной диагностики лейкозов

Наиболее точным способом диагностики острых и хронических лейкозов на сегодняшний день является метод идентификации поверхностных, цитоплазматических и ядерных антигенов дифференцировки бластных клеток, т.е. их фенотипа. При острых лейкозах процедура иммунофенотипирования проводится в два этапа: на первом этапе определяется линейная принадлежность бластных клеток, на втором — уточняется степень их зрелости (табл. 5.3). Обычно до начала иммунофенотипирования проводится морфоцитохимическое исследование бластных клеток костного мозга и крови, что позволяет правильно подобрать к известным антигенам диагностическую панель моноклональных антител с линейной специфичностью и высокой аффинностью. В отсутствие предварительного цитохимического исследования бластных клеток в диагностическую панель моноклональных антител при иммунофенотипировании включают антитела и первого, и второго этапов скрининга.

Таблица 5.3

Панель маркеров для диагностики острых лейкозов (Глузман Д.Ф. и соавт., 2000)

Варианты маркеров	Характеристика маркеров
1-й этап скрининга	
В-лимфоидные	CD19, cyCD22, cyCD79a, CD10
Т-лимфоидные	cyCD3, CD2, CD7
Миелоидные	анти-МПО (к миелопероксидазе), CD13, CD33, CDw65, CD117
Линейно-неспецифические	TdT, CD34, HLA-DR
2-й этап скрининга	
При В-линейных ОЛЛ	cyIgM, легкие цепи Ig κ и λ , CD20, CD24
При Т-линейных ОЛЛ	CD1a, CD3, Cd4, CD5, CD8, анти-TCR α/β и γ/δ
При ОМЛ	CD14, CD15, CD41, CD61, CD64, антилизозим, антигликофорин А

Примечание. Здесь и далее: CD — cluster of differentiation (кластеры дифференцировки).

Острые лейкозы

Заболевания, относящиеся к группе острых лейкозов, возникают вследствие злокачественной трансформации ранней клетки-предшественницы гемопоэза с последующей клональной пролиферацией клеток одного или нескольких кроветворных ростков, полностью утрачивающих способность к дифференцировке на уровне бластных клеток (см. рис. 5.1).

Классификация острых лейкозов

В 1975 г. гематологами Франции, США и Великобритании была создана классификация острых лейкозов, базирующаяся на цитоморфологических признаках бластных клеток, — ФАБ-классификация, получившая широкое применение в клинической практике.

Согласно цитоморфологической ФАБ-классификации острые лейкозы подразделяют на лимфобластные и миелоидные, в структуре которых выделены следующие цитологические варианты.

1. Острые лимфобластные лейкозы (ОЛЛ):

- L1 — микролимфобластный ОЛЛ;
- L2 — ОЛЛ с типичными бластами;
- L3 — макролимфобластный ОЛЛ.

2. Острые миелоидные лейкозы (ОМЛ):

- M0 — острый миелобластный лейкоз с минимальными признаками дифференцировки;
- M1 — острый миелобластный лейкоз без признаков вызревания;
- M2 — острый миелобластный лейкоз с признаками вызревания;
- M3 — гипергранулярный острый промиелоцитарный лейкоз;
- M3v — микрогранулярный острый промиелоцитарный лейкоз;
- M4 — острый миеломонобластный лейкоз;
- M5a — острый монобластный лейкоз без признаков вызревания;
- M5b — острый монобластный лейкоз с признаками вызревания;
- M6 — эритролейкоз;
- M7 — острый мегакариобластный лейкоз.

Позднее, в 1995 г., Европейской группой по иммунологической характеристике лейкозов (European Group for the Immunological Characterization of Leukemias, EGIL) была предложена классификация острых лимфобластных лейкозов по иммунологическому принципу. В соответствии с EGIL-классификацией их подразделяют на Т- и В-линейные лейкозы (табл. 5.4).

EGIL-классификация острых лимфобластных лейкозов

Форма	Название	Специфический маркер
Т-линейные ОЛЛ (общий маркер – цитоплазматический (мембранный) CD3 ⁺ ,		
T-I	Про-Т-ОЛЛ	CD7 ⁺
T-II	Пре-Т-ОЛЛ	CD2 ⁺ , и (или) CD5 ⁺ , и (или) CD8 ⁺
T-III	Кортикальный Т-ОЛЛ	CD1a ⁺
T-IV	Зрелый Т-ОЛЛ α/β Т-ОЛЛ (подгруппа а) γ/δ Т-ОЛЛ (подгруппа б)	CD3 ⁺ мембранный CD1a ⁺ +/- Анти-TCR α/β ⁺ Анти-TCR γ/δ ⁺
В-линейные ОЛЛ (общий маркер CD19 ⁺ , и (или) CD79a ⁺ , и (или) CD22 ⁺)		
B-I	Про-В-ОЛЛ	Нет экспрессии других маркеров
B-II	Common-ОЛЛ	CD10 ⁺
B-III	Пре-В-ОЛЛ	Цитоплазматический (cy) IgM ⁺
B-IV	Зрелый В-ОЛЛ	Цитоплазматические (cy) и поверхностные (s) легкие цепи Ig (κ ⁺ или λ ⁺)

Клинико-лабораторная характеристика острых лейкозов

Острые лейкозы характеризуются высокой скоростью развития опухолевого процесса, что при отсутствии необходимого лечения быстро приводит к гибели больного. Выделяют следующие стадии клинического течения острых лейкозов: первая атака, развернутая стадия, терминальная стадия или выздоровление (рис. 5.3). Каждая из них имеет свой клинико-лабораторный профиль.

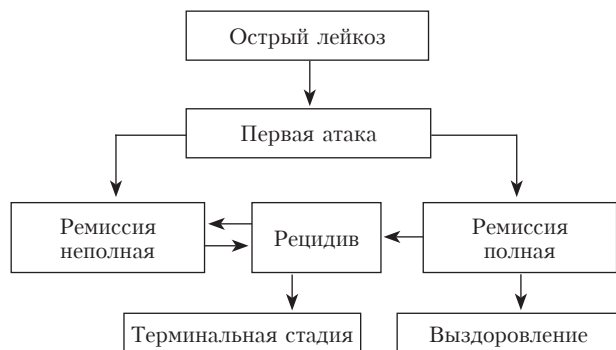


Рис. 5.3. Основные стадии клинического течения острых лейкозов

Стадия *первой атаки* охватывает период времени от проявления первых клинико-гематологических симптомов заболевания, установления диагноза и начала лечения до получения эффекта от проводимой терапии. Критерием лабораторной диагностики острых лейкозов служит наличие в костном мозге свыше 30% бластных клеток.

В зависимости от содержания бластных клеток в периферической крови острые лейкозы подразделяются на три вида:

- 1) алейкемические — бластные клетки в крови отсутствуют;
- 2) сублейкемические — бластные клетки в крови обнаруживаются в небольшом количестве (3–5%);
- 3) лейкемические — бласты составляют основную массу клеток крови.

Общее количество лейкоцитов в периферической крови при острых лейкозах может быть:

- при алейкемическом варианте — ниже нормы;
- при сублейкемическом варианте — $6-60 \cdot 10^9/\text{л}$;
- при лейкемическом варианте — более $60 \cdot 10^9/\text{л}$.

Развернутая стадия острого лейкоза (стадия развернутых клинических проявлений) характеризуется чередованием ремиссий и рецидивов.

Ремиссия — исчезновение проявлений патологического процесса под влиянием цитостатической терапии. Различают полную и неполную ремиссии.

Полная ремиссия характеризуется нормализацией клинических показателей, картины периферической крови и костного мозга в течение не менее 1 мес.

Клинико-лабораторные критерии полной ремиссии:

- 1) костномозговой — содержание в костном мозге не более 5% бластных клеток и не более 30% лимфоцитов при нормальной его общей клеточности;
- 2) «кровяной» (отсутствие бластов в периферической крови, количество гранулоцитов более $1,5 \cdot 10^9/\text{л}$, количество тромбоцитов более $100 \cdot 10^9/\text{л}$, содержание гемоглобина более 100 г/л);
- 3) клинический — исчезновение патологических симптомов;
- 4) субъективный — отсутствие жалоб.

Неполная ремиссия — состояние, при котором нормализуются клинические показатели и гемограмма, но в пунктате костного мозга сохраняются бластные клетки в количестве не более 20%.

Рецидив проявляется возвратом активной стадии заболевания после ремиссии. Рецидив может быть:

- 1) *костномозговым*, который подразделяется на два вида:
 - алейкемический, характеризующийся обнаружением бластов в костном мозге (свыше 20%) при отсутствии их в периферической крови;
 - лейкемический, характеризующийся обнаружением бластов не только в костном мозге (свыше 20%), но и в периферической крови;
- 2) *внекостномозговым* (местным) — присутствие лейкемических инфильтратов вне костного мозга (в лимфоузлах, селезенке, лейкомидах кожи и др.).

Терминальная стадия острого лейкоза представляет собой завершающий этап опухолевой прогрессии при полном истощении нормального кроветворения и резистентности к цитостатической терапии. Причиной гибели больных чаще всего являются инфекционно-воспалительные осложнения (перитонит, пневмония, сепсис и др.), кровотечения, кровоизлияния во внутренние органы.

Под *выздоровлением* подразумевают полную ремиссию, сохраняющуюся в течение 5 лет и более.

Острые лимфобластные лейкозы

В основе острых лимфобластных лейкозов лежит злокачественная трансформация лимфоидных клеток-предшественниц костного мозга.

Согласно ФАБ-классификации, основывающейся на цитоморфологических признаках лимфоидных клеток, выделяют три цитологических варианта ОЛЛ: микролимфобластный (L1), с типичными бластами (L2) и макролимфобластный (L3) (табл. 5.5).

При цитохимическом исследовании бластов при ОЛЛ обнаруживается положительная реакция клеток на гликоген (в виде

мелких или крупных гранул вокруг ядра в форме ожерелья) и кислую фосфатазу (в единичных клетках, что указывает на их Т-клеточное происхождение) (табл. 5.6).

Таблица 5.5

**Цитологические варианты острых лимфобластных лейкозов
(в соответствии с ФАБ-классификацией)**

Морфологические свойства бластов		L1	L2	L3
Размер клеток		Однородная популяция клеток малых размеров	Неоднородная популяция клеток: преобладают крупные клетки, реже выявляются клетки средних и малых размеров (рис. 5.5)	Однородная популяция клеток крупных размеров
Особенности ядра	Форма	Правильная, округлая, иногда с расщелинами или зазубринами	Неправильная, как правило, с расщелинами, зазубринами и вдавлениями	Правильная, овальная или округлая
	Структура хроматина	Гомогенная, плотная	Гетерогенная, чаще нежная	Гомогенная, тонкопетлистая
	Ядрышки	Отсутствуют или небольшие, плохо различимые	1 и более, крупные	От 1 до 3, крупные, пузырьковидные
Особенности цитоплазмы	Величина	Узкая	Широкая, умеренная или узкая	Умеренная
	Выраженность базофилии	Слабая или умеренная	Вариабельная, может быть интенсивной	Интенсивная
	Вакуолизация	Вариабельная	Вариабельная	Выраженная
	Азурофильная зернистость	Чаще отсутствует, в части клеток — скудная	Единичные гранулы	Отсутствует

Внедрение иммунологических и цитогенетических методов в лейкозологию позволило также получить уникальную информацию о разнообразии фенотипического профиля и хромосомных аномалий лимфобластов при отдельных вариантах ОЛЛ (табл. 5.7).

В костном мозге при ОЛЛ выявляется увеличение общей клеточности, тотальная лимфобластная метаплазия.

Картина периферической крови при ОЛЛ:

— присутствие бластных клеток;

Т а б л и ц а 5.6
Цитохимические особенности бластных клеток при острых лейкозах различного происхождения

Вариант лейкоза	Субстрат цитохимических реакций					
	МПО	Липиды	Кислая фосфатаза	Гликоген	α -НАЭ	ХАЭ
Острый лимфобластный лейкоз	—	—	+	+/- Мелко-гранулярная	—	—
	—	—	+/- Мелко-гранулярная	+	—	—
	—	—	—	—	—	—
Острый миелонный лейкоз	M0	—	—	—	—	—
	M1, M2	++	±	+	± (не подавляется NaF)	±
	M3	+++	+	Диффузная +++	± (не подавляется NaF)	+++
	M4	±	+	Диффузная ±	++ (частично подавляется NaF)	±
	M5a, M5b	±	++ (подавляется тарtratом)	Диффузная ±	+++ (полностью подавляется NaF)	—
	M6	—	—	+	—	—
	M7	—	+	Диффузно-гранулярная +	— (не подавляется NaF)	—

Примечание. МПО — миелопероксидаза, α -НАЭ — α -нафтилacetateгстераза, ХАЭ — хлорацетатгстераза, КСМ — кислые сульфатированные мукполисахариды, «+» — положительная реакция, «+++» — высокая активность реакции, «+++» — очень высокая активность реакции, «±» — слабая активность реакции, «+/-» — положительная реакция в единичных клетках, «-» — отрицательная реакция.

- нормохромная, нормоцитарная анемия;
- ОКЛ у 65% больных в пределах нормы, у 35% пациентов — менее $5 \cdot 10^9/\text{л}$;
- тромбоцитопения менее $50 \cdot 10^9/\text{л}$ — у 60% больных, в пределах $50\text{--}150 \cdot 10^9/\text{л}$ — у 30%, количество тромбоцитов свыше $150 \cdot 10^9/\text{л}$ — у 10% пациентов.

Таблица 5.7

**Иммунофенотипические и цитогенетические признаки
острых лимфобластных лейкозов (Глузман Д.Ф. и соавт., 2000)**

Вариант ОЛЛ		Иммунофенотип	Цитогенетические аномалии	Морфологический вариант
Т-клеточный		CD7 ⁺ CD5 ⁺ CD4 ⁺ , CD8 ⁺ D1a ⁺	t (10; 14)	L1, редко L2
В-клеточные	В-I	TdT ⁺ (CD34 ⁺)CD19 ⁺ CD10 ⁻ , в 50% случаев — CD15 ⁺ , CD65 ⁺ , иногда CD33 ⁺	t (4; 11), t (11; V)	L1 или L2
	В-II	TdT ⁺ (CD34 ⁺)CD19 ⁺ CD22 ⁺ CD79a ⁺ CD10 ⁺ су ⁻	Гиперплоидия, t (12; 21), t (9; 22)	L1
	В-III	CD19 ⁺ CD22 ⁺ CD10 ^{+/+} CD20 ^{+/+} CD34-су ⁺ CD9 ⁺	t (1; 19)	L1, L2, редко L3
	В-IV	CD19 ⁺ CD22 ⁺ CD20 ⁺ CD10 ^{+/+} -sIg ⁺	t (8; 14), t (8; 22), t (2; 8)	L3

Острые миелоидные лейкозы

В основе острых миелоидных лейкозов (ОМЛ) лежит злокачественная трансформация миелоидных клеток-предшественниц. Пролиферация клеток с цитоморфологическими признаками миелобластов, монобластов, эритробластов и мегакариобластов обуславливает лейкемическую инфильтрацию костного мозга и выход бластных клеток в периферическую кровь.

Данные лабораторных исследований периферической крови и костного мозга варьируют в зависимости от цитологического варианта ОМЛ (табл. 5.8, 5.9). Дифференциальная диагностика отдельных форм ОМЛ основывается, как правило, на данных цитохимического, цитогенетического анализов и иммунофенотипического исследования бластных клеток периферической крови и костного мозга, позволяющих сделать более точный вывод о природе лейкозных клеток (табл. 5.6, 5.9, 5.10).

В качестве базисных цитохимических методов диагностики ОМЛ проводят определение в бластах содержания и характера распределения липидов, гликогена, кислых сульфатированных мукополисахаридов, активности миелопероксидазы, кислой фосфатазы, неспецифической эстеразы (α -нафтилацетатэстеразы), хлорацетатэстеразы (см. табл. 5.6).

Таблица 5.8

Показатели костномозгового кроветворения при различных ФАБ-вариантах острых миелоидных лейкозов (Глузман Д.Ф. и соавт., 2000)

Вариант лейкоза	Эритроидные клетки среди ЯКМ, %	Бластные клетки среди НКМ, %	Гранулоциты среди НКМ, %	Моноциты среди НКМ, %
M0	<50	>90	<10	<10
M1	<50	>90	<10	<10
M2	<50	30–89	>10	<20
M3	<50	<30 среди ЯКМ, гипергранулярные	>10	<20
M3v	<50	<30 среди ЯКМ, микрогранулярные	>10	<20
M4	<50	>30	>20	>20
M5a	<50	>30	<20	>80, среди них >80% монобластов
M5b	<50	>30	<20	>80, среди них <80% монобластов
M6	>50	>30 среди ЯКМ	Варьируют	Варьируют
M7	<50	>30 среди ЯКМ	Варьируют	Варьируют

Примечание. ЯКМ — ядродержащие клетки костного мозга, НКМ — незрелые клетки костного мозга.

Бифенотипические и недифференцированные острые лейкозы

Бифенотипическими (линейно-смешанными) называют лейкозы, при которых на поверхностной мембране бластных клеток одновременно обнаруживается более двух линейно-специфических лимфоидных и миелоидных антигенов.

К *недифференцированным острым лейкозам* относят такие, при которых бластные клетки не имеют специфических цитоморфологических признаков лимфоидных и миелоидных клеток, не проявляют цитохимической активности и не экспрессируют линейно-специфических антигенов (их фенотип $CD34^+HLA-DR^+CD38^+CD7^+$ соответствует фенотипу стволовой клетки).

Т а б л и ц а 5.9
Цитогенетические, цитоморфологические признаки и количественные показатели периферической крови при острых миелоидных лейкозах (Глузман Д.Ф. и соавт., 2000; Ермолов С.Ю. и соавт., 2003)

Вариант лейкоза	Цитогенетические аномалии	Морфологические свойства бластных клеток костного мозга и периферической крови	Показатели периферической крови
M0	Моносомия 7 Трисомия 13 Трисомия 4	Бластные клетки напоминают по внешнему виду лимфоциты при L1 и L2, не содержат зернистости и палочек Ауэра	Анемия, тромбоцитопения, ОКЛ резко увеличено или снижено
M1	В некоторых случаях t (9; 22)	Обнаруживаются миелобласты среднего и крупного размера с варибельным ядерно-цитоплазматическим соотношением (см. рис. 5.5). Ядра округлой или овальной формы с 1–3 четкими ядрышками, в цитоплазме немногочисленные азурофильные гранулы, палочки Ауэра	В 50% случаев — лейкоцитоз (до $100 \cdot 10^9/\text{л}$), в 25% — панцитопения, лейкопения, практически во всех случаях — анемия, в 75% — тромбоцитопения ($<50 \cdot 10^9/\text{л}$)
M2	t (8; 21)	Встречаются миелобласты средних размеров с узким ободком незернистой цитоплазмы и крупные миелобласты с обширной (иногда вакуолизированной) цитоплазмой с азурофильными гранулами и 1–2 палочками Ауэра (они могут определяться в более зрелых клетках гранулоцитарного ряда). Выявляются признаки дисплазии гранулоцитарного роста	У 50% больных — лейкоцитоз, у 25% — лейкопения. Во всех случаях отмечаются анемия и тромбоцитопения. В нейтрофилах — гипер- или гипосегментация ядер, истончение цитоплазматической зернистости
M3, M3v	t (15; 17) t (5; 17) t (11; 17)	При <i>гипергранулярном варианте</i> обнаруживаются типичные промиелоциты с большим количеством крупных азурофильных гранул и палочек Ауэра (нередко их 10–20 и более). При слиянии палочек Ауэра образуются «faggot cells» — клетки с «пучком прутьев». Ядра гипергранулярных промиелоцитов имеют моношпатообразную структуру хроматина, бобовидные, складчатые, со смазанными контурами (иногда их форма неразличима из-за обилия гранул в цитоплазме). При <i>микрогранулярном</i> (M3v) <i>варианте</i> в промиелоцитах обнаруживается умеренное количество мелких азурофильных гранул, многочисленные палочки Ауэра. Ядра клеток неправильной формы, дольчатые, складчатые, напоминающие по внешнему виду ядра незрелых моноцитарных клеток	Количество лейкоцитов варьирует от лейкопении ($1,5\text{--}2 \cdot 10^9/\text{л}$) до выраженного лейкоцитоза. Отмечается выраженная анемия, тромбоцитопения (количество тромбоцитов не более $50 \cdot 10^9/\text{л}$)

О к о н ч а н и е т а б л. 5.9

Вариант лейкоза	Цитогенетические аномалии	Морфологические свойства бластных клеток костного мозга и периферической крови	Показатели периферической крови
M4	Inv (16) t (16; 16) t (8; 16)	Выявляются бластные клетки двух типов: — миелобласты — по цитоморфологическим признакам подобны таковым при M2 (у 60% пациентов — с палочками Ауэра); — монобласты — крупные клетки с обширной цитоплазмой серо-голубоватого цвета и пылевидной азурофильной зернистостью, с округлыми ядрами с нежной структурой хроматина и 1–3 ядрышками	У 90% больных обнаруживается анемия (в 50% случаев содержание гемоглобина <100 г/л), во всех случаях — тромбоцитопения (у 50% больных <50 · 10 ⁹ /л), у 86% пациентов — лейкоцитоз в среднем до 46 · 10 ⁹ /л, у 10% — лейкопения. Наряду с миело- и монобластами могут обнаруживаться промиелоциты
M5a		Обнаруживаются монобласты крупных размеров с широкой серо-голубой цитоплазмой. В цитоплазме — скудная азурофильная зернистость, вакуолизация. Ядра клеток округлые, бобовидные, как правило, с одним четким ядрышком	ОКЛ может быть сниженным, в пределах нормы или повышенным (у 30% пациентов более 100 · 10 ⁹ /л). Преобладающими клетками являются клетки моноцитарного ряда. Анемия определяется у 80% больных, тромбоцитопения — в 70–80% случаев заболевания. В сыворотке крови — повышенное содержание лизоцима
M5b	t (9; 11) t (4; 11)	Преобладающим типом незрелых клеток являются промиелоциты (количество монобластов не превышает 10–15%) — крупные клетки с обширной бледной серо-голубой цитоплазмой с азурофильными гранулами. Ядра клеток отличаются с нежной структурой хроматина и трудно различимыми ядрышками. В ряде случаев выявляются признаки дизгеранулоцитопоза, дизэритропоэза и дизмегакарипоцитопоза	
M6	del (5q) del (7q)	Могут обнаруживаться типичные эритрономбласты, гигантские, многоядерные эритрокардиоциты с мегалобластическим оттенком, мегалобласты, недифференцируемые бласты. Типичные эритрономбласты имеют крупные и средние размеры, округлые ядра с 1–2 ядрышками, резко базофильную цитоплазму. Определяются также атипичные клетки с вакуолизированной и оторостчатой цитоплазмой, клетки с карпорексисом. В аномальных эритроидных клетках могут устанавливаться признаки эритрофагоцитоза	ОКЛ сниженное, по мере прогрессирования болезни развивается лейкоцитоз. Обнаруживаются анемия, тромбоцитопения (во всех случаях заболевания). Отмечаются выраженный анизо- и пойкилоцитоз, гиперхромия эритроцитов, появление в кровотоке эритроцитов с базофильной зернистостью, кольцами Кабо, эритробластов, полихроматофильных и оксифильных эритрономбластов

M7	inv (3) t (3; 3) t (1; 22)	Выявляются мегакариобласты — клетки с похожим на ядра бластов, но гиперхромным ядром, узкой цитоплазмой с нитевидными выростами, осколки мегакариобластов. Реже обнаруживаются крупные мегакариобласты с обширной цитоплазмой и азурофильными гранулами в перинуклеарной зоне, а также недифференцируемые бласты	Характерен тромбоцитоз (более $1000 \cdot 10^9/\text{л}$). Тромбоциты имеют гигантские размеры, могут склеиваться в «кучки», имеется качественный дефект клеток — «серые» тромбоциты (в результате дефекта α -гранул). Наряду с недифференцируемыми бластами и мегакариобластами обнаруживаются незрелые клетки гранулоцитарного и эритроидного ряда
----	----------------------------------	--	--

Т а б л и ц а 5.10

Иммунофенотипические признаки острых миелоидных лейкозов

Вариант лейкоза	HLA-DR	CD34	CD13	CD33	CD65	CD14	CD15	Гликофорин А	CD41/CD61
M0	+	+/-	-	+/-	+/-	-	-	-	-
M1	+	+/-	+	+	+	-	-	-	-
M2	+/-	+/-	+	+	+	-	+	-	-
M3	-	-	+	+	+/-	-	-	-	-
M4	+	+/-	+	+	+	+	+	-	-
M5	+	+/-	+/-	+	+	+/-	+/-	-	-
M6	-	+/-	+/-	+/-	+/-	-	+/-	+	-
M7	-	+/-	+/-	+/-	+/-	-	-	-	+

Примечание. HLA — human leukocytes antigens, CD — cluster of differentiation, «+» — выраженная экспрессия антигена, «+/-» — экспрессия антигена на единичных клетках, «-» — полное отсутствие антигена.

Хронические лейкозы

Заболевания, относящиеся к группе хронических лейкозов, возникают вследствие злокачественной трансформации ранней кроветворной клетки-предшественницы с последующей клональной пролиферацией клеток одной или нескольких линий гемопоэза, сохраняющих способность к дифференцировке до стадии созревающих или зрелых клеток (см. рис. 5.1).

Классификация хронических лейкозов

На основании цитоморфологических различий клеток, составляющих субстрат опухоли, выделяют следующие формы хронических лейкозов.

1. Хронические лимфопролиферативные лейкозы:

а) В-клеточные хронические лимфолейкозы:

— хронический лимфолейкоз (В-клеточный хронический лимфолейкоз);

— волосатоклеточный лейкоз;

— парпротеинемические гемобластозы (множественная миелома (миеломная болезнь), макроглобулинемия Вальденстрема);

б) Т- и ЕК-клеточные (из ЕК-клеток — естественных киллеров) хронические лимфолейкозы:

— болезнь Сезари (лимфоматоз кожи);

— лейкоз из больших гранулодержащих лимфоцитов (ЕК-клеток).

2. Хронические миелопролиферативные лейкозы:

а) хронический миелолейкоз:

— Rh-положительный (типичный);

— Rh-отрицательный (атипичный, ювенильный);

б) хронический миеломоноцитарный лейкоз;

в) хронический нейтрофильный лейкоз;

г) хронический эозинофильный лейкоз;

д) хронический базофильный лейкоз;

е) хронический тучноклеточный лейкоз;

ж) истинная полицитемия;

- з) эссенциальная тромбоцитемия;
- и) хронический идиопатический миелофиброз с миелоидной метаплазией.

Клинико-лабораторная характеристика хронических лейкозов

В отличие от острых лейкозов моноклоновая («доброкачественная») стадия развития хронических лейкозов является более продолжительной (годы, десятилетия). В клиническом течении хронических лейкозов выделяют *хроническую фазу* (характеризуется длительным компенсированным течением) и *фазу бластной трансформации* (проявляется бластным кризом с резким увеличением количества бластных клеток в костном мозге и периферической крови (более 30%), прогрессированием анемии, тромбоцитопении и формированием внекостномозговых лейкоэмических инфильтратов) (рис. 5.4).

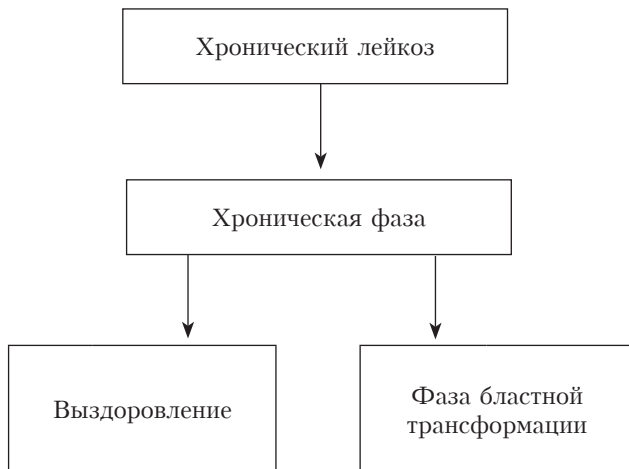


Рис. 5.4. Основные стадии клинического течения хронического лейкоза

Клинико-лабораторная картина хронических лейкозов характеризуются разнообразием признаков, строго специфичных для определенной формы заболевания (табл. 5.11, 5.12).

Т а б л и ц а 5.11
Клинико-лабораторные признаки хронических лимфопролиферативных лейкозов

Вариант лейкоза	Клинические проявления	Иммунофенотип клеток	Цитогенетические аномалии	Показатели костного мозга	Показатели периферической крови
Хронический лимфолейкоз	Лихорадка, снижение массы тела, лимфаденопатия, сплено- и гепатомегалия, лейкоцитарная инфильтрация органов (кожи, органов пищеварения, легких, центральной нервной системы, почек), инфекционные осложнения	CD19, CD20, CD24, CD79a	Трисомия 12	<p>Костный мозг гиперклеточный, содержит не менее 30% клеток (от общего числа миелокариоцитов) с цитоморфологическими признаками малых лимфоцитов — клеток с высоким ядерно-цитоплазматическим соотношением, округлыми ядрами с плотной глыбчатой структурой хроматина, без ядрышек, со слабо или умеренно базофильной, иногда вакуолизированной незернистой цитоплазмой. В трепанобиоптатах — очаги из пролимфоцитов</p> <p>В лимфоцитах костного мозга и периферической крови определяется положительная гранулярная реакция на гликоген, увеличение активности фосфорилазы, положительная полиморфная реакция на кислую фосфатазу</p>	ОКЛ в пределах $10-150 \cdot 10^9/\text{л}$ (иногда более $400 \cdot 10^9/\text{л}$), лимфоцитоз (более $10 \cdot 10^9/\text{л}$), присутствие в крови дегенеративных форм лимфоцитов (только ядер, форм Ридера, теиной Боткина—Гумпрехта) (рис. 3.6), по мере прогрессирования болезни — нормохромная анемия, тромбоцитопения. <p>В структуре лимфоцитов — увеличение количества и активация Т-супрессоров, снижение количества ЕК-клеток. В сыворотке крови — гипогаммаглобулинемия</p>
Волосатоклеточный лейкоз	Спленомегалия, лейкоцитарная инфильтрация органов, аутоиммунный синдром, рецидивирующие инфекции, поражение костей скелета	CD19, CD20, CD22, CD24, CD79	t (14; 18) t (9; 14) t (14; 22) del (6q) трисомия 5 и 12 моносомия 10 и 12	<p>Костный мозг гипоклеточный вследствие выраженного ретикулинозного фиброза. При исследовании трепанобиоптатов устанавливается очаговая или диффузная инфильтрация костного мозга лимфоидными клетками, выявляются «волосатые» клетки — среднего размера с округлыми, овальными или бобовидными ядрами, плотной структурой хроматина, нечеткими ядрышками, с широкой бледно-голубой цитоплазмой и ворсинчатыми выростами</p> <p>«Волосатые» клетки костного мозга и периферической крови проявляют положительную тартрагрезистентную реакцию на кислую фосфатазу и гликоген, слабую активность α-нафтилацидастеразы</p>	У 50% больных — панцитопения, нормохромная нормоцитарная анемия, лейкопения (менее $1,5 \cdot 10^9/\text{л}$), моноцитопения, тромбоцитопения (менее $100 \cdot 10^9/\text{л}$ в 70% случаев). Обнаруживаются «волосатые» клетки. В нейтрофилах — увеличение активности лейкоцитарной щелочной фосфатазы

Множественная миелома	Слабость, потеря веса, признаки анемии, гиперкальциемия (тошнота, рвота, сонливость и др.), повреждение костей (на рентгенограммах — очаги деструкции в плоских костях и позвоночнике, реже — в проксимальных отделах трубчатых костей), болевой синдром (боли в позвоночнике), нейропатия, симптомы почечной недостаточности, циркуляторные нарушения вследствие гипервolemии, тромбозы, геморрагии, рецидивирующие инфекции, лейкемическая инфильтрация висцеральных органов (печени, селезенки, почек и др.)	CD10, CD13, CD30, CD43, CD56, CD79a, HLA-DR, EMA	Рearранжировки хромосом 1, 11, t(11; 14)	Не менее 10% плазматических клеток различной степени зрелости — плазмобластов, проплазмочитов и плазмочитов, в цитоплазме которых могут обнаруживаться кристаллы, включения голубого (клетки Мотта) и розового (тельца Рассела) цвета в результате кристаллизации и конденсации иммуноглобулинов. В ряде случаев — субтотальная или тотальная инфильтрация миеломными клетками с крупными ядрами и слабо конденсированным ядерным хроматином, обильной красновато-розовой цитоплазмой, подобной языкам пламени. Встречаются многоядерные плазматические клетки. У 10% больных — фиброз, остеосклероз	<p>Нормохромная нормоцитарная анемия, резкое и стабильное повышение СОЭ (иногда до 80–90 мм/ч). Возможно увеличение ОКЛ и количества тромбоцитов, по мере прогрессирования болезни — нарастающие лейкопения, нейтропения и тромбоцитопения, лимфоцитоз (в том числе за счет молодых форм клеток), повышенное содержание плазмочитов, в некоторых случаях выявляются миеломные клетки. В мазках — пойкилоцитоз и атлантинация эритроцитов («монетные столбики»).</p> <p>В сыворотке крови — моноклональный парапротеин (3 г/дл и более), снижение содержания нормоглобулинов (менее 50% от нормы), в моче — κ- или λ-легкие цепи иммуноглобулинов >1 г/день (протеинурия Бенс-Джонса). При электрофорезе сыворотки крови и мочи — М-градиент (полоса моноклонового белка в зоне миграции глобулинов)</p>
-----------------------	---	--	--	--	--

О к о н ч а н и е т а б л . 5.11

Вариант лейкоза	Клинические проявления	Иммуно-фенотип клеток	Цитогенетические аномалии	Показатели костного мозга	Показатели периферической крови
Макроглобулинемия Вальденстрема	Сходны с таковыми при множественной миеломе, за исключением симптомов поражения костей скелета и гиперкальциемии. Отмечаются также непереносимость холода (криоглобулинемический синдром), синдром Рейно	CD19, CD20, CD22, CD79a, реже – CD10, CD11c, CD21, CD23, CD38	Аномалии хромосом 10, 11, 12, 20, реже – t (8; 14), t (14; 18)	Костный мозг гиперклеточный вследствие инфильтрации лимфоцитами, плазматизированными лимфоцитами и плазматическими клетками, увеличения количества тучных клеток	Нормохромная нормоцитарная анемия, в мазках – «монетные столбики» эритроцитов. ОЖЛ в пределах нормы, нейтропения, лимфоцитоз. В сыворотке крови – повышенный уровень IgM
Болезнь Сезари (лимфоматоз кожи)	Генерализованная эритродермия, алопеция, поражение век, дистрофия ногтей, отеки (чаще в области лодыжек), интенсивный зуд кожи. У 60% больных – лимфаденопатия, у 30% – спленомегалия	CD2, CD3, CD4, CD5	Аномалии хромосом 1, 2, 6	При исследовании трепанобиоптатов – очаги лимфоидной инфильтрации из малых лимфоцитов и клеток Сезари – атипичных лимфоидных клеток со светлой цитоплазмой, складчатými (конволютными) ядрами и вариабельной плотностью хроматина	Содержание гемоглобина, количество эритроцитов и тромбоцитов в пределах нормы, лимфоцитоз (менее $70 \cdot 10^9/\text{л}$), у отдельных больных – эозинофилия. В мазках – клетки Сезари. В сыворотке крови – повышенный уровень IgE

Лейкоз из больших гранулоцитарных лимфоцитов (B-1)	Слабость, лихорадка, боль в суставах, признаки дисфункции печени, рецидивирующие бактериальные инфекции	CD3, CD8, CD16, TCR $\alpha\beta$	Постоянные цитогенетические аномалии не установлены	Костный мозг гиперклеточный за счет увеличения числа гранулоцитарных лимфоцитов, при исследовании трепанобиоптатов – очаги лимфодной инфильтрации, фиброз	<p>Нормохромная, нормо- или макроцитарная анемия, лимфоцитоз не более $20 \cdot 10^9/\text{л}$ (при содержании БГЛ менее 19%), нейтропения, тромбоцитопения. В мазках крови аномальные БГЛ-подобные лимфоидные клетки – клетки с округлыми плотными ядрами, обширной светлой цитоплазмой с нежными и грубыми азурофильными гранулами варибельного размера.</p> <p>В сыворотке крови – гипергаммаглобулинемия, в высоком титре антилейкоцитарные и антитромбоцитарные антитела, циркулирующие иммунные комплексы</p>
--	---	-----------------------------------	---	---	--

Клинико-лабораторные признаки хронических миелопрролиферативных лейкозов

Вариант лейкоза	Клинические проявления	Лабораторные признаки	
		Показатели костного мозга	Показатели периферической крови
Хронический миелолейкоз	Нарастающая слабость, утомляемость, анорексия, потеря веса, ночные поты, боль в левом подреберье вследствие спленомегалии (в 95% случаев заболевания)	Костный мозг гиперклеточный с преобладанием зрелых и незрелых клеток гранулоцитарного ряда (лейкоэритробластическое отношение увеличивается до 20 : 1 при 2 : 1—4 : 1 в норме), мегакариоцитов. Нередко обнаруживаются тистиоциты, псевдоклетки Гоше. Устанавливаются признаки дисэритропоэза, появление эритроидных клеток с металобластическим оттенком. При исследовании трепанобиоптатов костного мозга — признаки ретикулинового (реже коллагенового) фиброза, остеосклероза	В хронической фазе ОКЛ колеблется от $50 \cdot 10^9/\text{л}$ и более (у 25% больных — более $350 \cdot 10^9/\text{л}$). Содержание миелобластов составляет 2—3%. Общее количество промиелоцитов и миелоцитов увеличивается по мере прогрессирования болезни при одновременном уменьшении числа палочкоядерных и сегментоядерных форм гранулоцитов. Отмечаются выраженная эозинофилия и базофилия (эозинофильно-базофильная ассоциация), моноцитоз (рис. 5.6). Устанавливается нормохромная анемия с анизо- и пойкилоцитозом, могут обнаруживаться эритрономорбласти. У 50% больных — тромбоцитоз (более $600 \cdot 10^9/\text{л}$). В период бластной трансформации — резкое «омоложение» лейкоцитарной формулы за счет увеличения числа промиелоцитов и миелобластов (не менее 30%), анемия, тромбоцитопения. В гранулоцитах — псевдоделегеризация, низкая активность лейкоцитарной щелочной фосфатазы. В сыворотке крови — повышенное содержание витамина B_{12} и B_{12} -связывающих белков
		У 95% больных ХМЛ в клетках костного мозга и периферической крови обнаруживается Рh-хромосома — результат t (9; 22) (Рh-положительный хронический миелолейкоз), у 5% больных Рh-хромосома не определяется (Рh-отрицательный хронический миелолейкоз)	

Хронический миеломоноцитарный лейкоз	Признаки анемического синдрома, спленомегалия	Костный мозг гиперклеточный за счет увеличения количества незрелых и зрелых клеток гранулоцитарного и (в меньшей степени) моноцитарного ряда (промоноцитов, моноцитов). Миелобласты и монобласты составляют не более 5% от общего числа миелокариоцитов, количество эритроидных клеток и мегакариоцитов в пределах нормы. Могут обнаруживаться признаки дисгранулоцитоза и дизэритропоэза, гигантские мегакариоциты. При исследовании трепанобиоптатов — миелофиброз	Лейкоцитоз, нейтрофилия (более $13 \cdot 10^9/\text{л}$), моноцитоз (более $1 \cdot 10^9/\text{л}$), макроцитарная анемия. Обнаруживаются незрелые клетки нейтрофильного ряда (не более 10% от ОЖЛ), промоноциты, реже — бласты. В гранулоцитах — псевдогегеризация, «отщепление» зернистости в цитоплазме, отрицательная реакция на миелопероксидазу, низкая активность лейкоцитарной щелочной фосфатазы. В сыворотке крови и моче устанавливается высокое содержание лизоцима
Хронический нейтрофильный лейкоз	Сплено- и гепатомегалия	Костный мозг гиперклеточный вследствие повышенного содержания созревающих и зрелых нейтрофильных гранулоцитов при нормальной численности миелобластов. Признаки дисгранулоцитоза отсутствуют. В ряде случаев — угнетение эритропоэза	ОЖЛ в пределах $(25-50) \cdot 10^9/\text{л}$ (редко — свыше $100 \cdot 10^9/\text{л}$), нейтрофилия без сдвига или с гипорегенераторным ядерным сдвигом влево (палочкоядерных нейтрофилов до 20–50%). В нейтрофилах — ядра кольцевидной формы, токсогенная зернистость и вакуолизация цитоплазмы, высокая активность лейкоцитарной щелочной фосфатазы. В сыворотке крови — повышенное содержание витамина B_{12} и B_{12} -связывающих белков
Хронический эозинофильный лейкоз	Сплено- и гепатомегалия, геморрагии, нередко — симптомы поражения сердца и легких	Костный мозг гиперклеточный за счет пропорционального увеличения количества незрелых и зрелых эозинофильных гранулоцитов. В незрелых эозинофилах определяется положительная реакция на миелопероксидазу, устойчивую к действию цианида. Эритроидный и мегакариоцитарный ростки не изменены	ОЖЛ более $20 \cdot 10^9/\text{л}$, персистирующая эозинофилия (более $1,5 \cdot 10^9/\text{л}$) за счет увеличения количества зрелых и незрелых эозинофильных гранулоцитов (в меньшей степени). В эозинофилах — гиперсегментация ядра, вакуолизация цитоплазмы, «отщепление» зернистости. У части больных — умеренная нейтрофилия (иногда с ядерным сдвигом влево)

О к о н ч а н и е т а б л. 5.12

Лабораторные признаки		
Клинические проявления	Показатели костного мозга	Показатели периферической крови
Признаки анемического синдрома, спленомегалия, лимфаденопатия, синдром ДВС, а также симптомы, связанные с гиперпродукцией гистамина в организме (пигментная крапивница, поражение костей скелета и др.)	Костный мозг гиперклеточный вследствие гиперплазии гранулоцитарного ростка и увеличения числа базофильных гранулоцитов. Содержание бластных клеток менее 30%	Нормохромная анемия, умеренная тромбоцитопения, повышение ОКЛ, увеличение количества базофильных гранулоцитов. В базофилах — отрицательная реакция на миелопероксидазу
Хронический базо-Филлиный лейкоз	В случае обнаружения в клетках костного мозга и периферической крови Рh-хромосомы хронический базофильный лейкоз рассматривается как вариант Рh-положительного хронического миелолейкоза, при истинном хроническом базофильном лейкозе Рh-хромосома не определяется	
Хронический тучноклеточный лейкоз	Костный мозг гиперклеточный за счет увеличения числа гранулоцитов, эозинофилов, лимфоцитов. В трепанобиоптатах — инфильтрация тучными клетками	Обнаруживаются тучные клетки (мастоциты) с высоким ядерно-цитоплазматическим соотношением, дольчатыми ядрами и гранулированной цитоплазмой. Анемия, моноцитоз, эозинофилия. В эозинофилах — признаки дегрануляции, вакуолизация цитоплазмы
Истинная полицитемия (эритремия, болезнь Вакеза—Ослера)	Костный мозг гиперклеточный за счет гиперплазии эритроидного ростка, а также гранулоцитарного и мегакариоцитарного ростков	Увеличение массы циркулирующих эритроцитов (менее 36 мл/кг массы тела у мужчин, не менее 32 мл/кг массы тела у женщин), концентрации гемоглобина (до 180–220 г/л) и гематокрита (до 60–80%), тромбоцитоз (более 400 · 10 ⁹ /л), увеличение ОКЛ более 12 · 10 ⁹ /л (при отсутствии лихорадки и воспаления), нейтрофильный лейкоцитоз со сдвигом влево, базофилия, эозинофилия. Могут обнаруживаться гигантские тромбоциты, фрагменты ядер мегакариоцитов. В нейтрофилах — увеличение активности лейкоцитарной щелочной фосфатазы, в сыроворотке крови — повышенный уровень витамин В ₁₂ . Насыщение артериальной крови кислородом более 92%

Эссенциальная тромбоцитопения	Признаки тромбоза сосудов и кровоизлияния	Костный мозг гиперклеточный за счет увеличения числа мегакариоцитов, умеренная гиперплазия гранулоцитарного и эритроидного ростков	Количество тромбоцитов более $600 \cdot 10^9/\text{л}$, содержание гемоглобина в пределах $10-20 \text{ г/л}$, ОКЛ — $6-41 \cdot 10^9/\text{л}$
Хронический миелопролиферативный синдром	Слабость, повышенная утомляемость, потливость, покраснение лица, кожный зуд, лихорадка, тяжесть в животе после еды, потеря веса, спленомегалия, боль в костях, кровотечения	При исследовании трепанобиоптатов устанавливается гиперклеточность костного мозга за счет гиперплазии гранулоцитарного, эритроидного и мегакариоцитарного ростков, миелофиброз и миелосклероз, при прогрессировании которых клеточность костного мозга снижается	Нормохромная анемия, содержание гемоглобина $80-100 \text{ г/л}$ и ниже, ОКЛ не более $50 \cdot 10^9/\text{л}$. Обнаруживаются незрелые клетки гранулоцитарного ряда, гипоперсегментированные нейтрофилы, миелобласты (1–5%). Характерна умеренная базофилия, лимфоцитопения. Количество тромбоцитов варьирует. Нередко обнаруживаются крупные гипогранулярные тромбоциты, аномальные мегакариоциты и их фрагменты

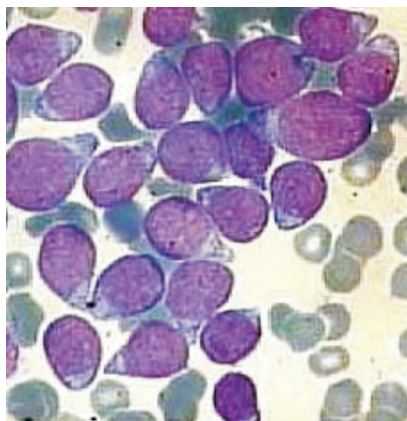
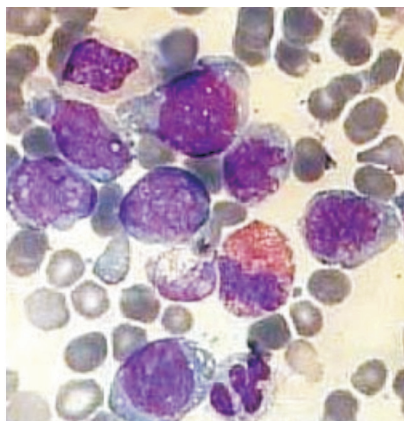
*а**б*

Рис. 5.5. Картина костного мозга при острых лейкозах: *а* — острый лимфобластный лейкоз (L2); *б* — острый миелобластный лейкоз (M1). Окраска азур II-эозином. Ув. 900

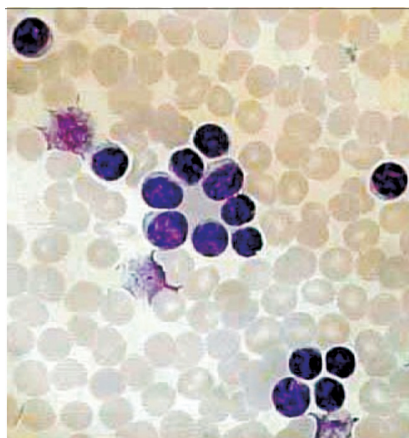
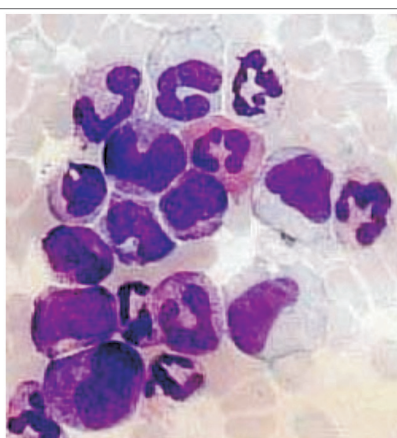
*а**б*

Рис. 5.6. Картина периферической крови при хронических лейкозах: *а* — хронический лимфолейкоз; *б* — хронический миелолейкоз. Окраска азур II-эозином. Ув. 900

Миелодиспластические синдромы

Миелодиспластические синдромы (МДС) — гетерогенная группа заболеваний, относящихся к гемобластомам, в основе формирования которых лежит повреждение полипотентной стволовой кроветворной клетки, сопровождающееся неэффективным эритропоэзом с развитием рефрактерной анемии, лейкопении и (или) тромбоцитопении, дисплазией клеток миелопоэза в условиях нормо- или гиперклеточности костного мозга. Диспластические изменения миелоидных клеток сочетаются с увеличением содержания бластов в костном мозге (не более 30%) и появлением бластных клеток в периферической крови (не более 5%).

ФАБ-классификация миелодиспластических синдромов:

1. Рефрактерная анемия (РА), или рефрактерная цитопения.
2. Рефрактерная анемия с кольцевыми сидеробластами (РАКС).
3. Рефрактерная анемия с избытком бластов (РАИБ).
4. Рефрактерная анемия с избытком бластов с трансформацией (РАИБ-Т).
5. Хронический миеломоноцитарный лейкоз (ХММЛ).

Критерии лабораторной диагностики. В лабораторной диагностике МДС важное значение имеет количество бластных клеток в костном мозге и периферической крови, наличие бластов с палочками Ауэра в цитоплазме (табл. 5.13), а также признаков дисплазии в молодых и зрелых клетках миелопоэза. Большое значение отводится количеству моноцитов: при абсолютном содержании моноцитов в периферической крови свыше $1 \cdot 10^9/\text{л}$ заболевание определяется как хронический миеломоноцитарный лейкоз (табл. 5.13).

Важную роль в диагностике МДС играет также цитохимическое исследование бластных клеток. Применение стандартного набора цитохимических реакций (на липиды, гликоген, кислые сульфатированные мукополисахариды, миелопероксидазу, кислую фосфатазу, α -нафтилацетатэстеразу, хлорацетатэстеразу) позволяет уточнить природу бластов для определения варианта МДС, в частности ХММЛ, путем идентификации молодых

клеток моноцитарного ряда, проявляющих высокую активность α -нафтилацетатэстеразы, чувствительной к действию специфического ингибитора — фторида натрия.

Т а б л и ц а 5.13

Лабораторные признаки основных форм миелодиспластического синдрома
(Глузман Д.Ф. и соавт., 2000)

Вариант МДС	Показатели костного мозга	Показатели периферической крови
РА	Содержание бластов менее 5%, кольцевых сидеробластов не более 15% от общего числа клеток эритроидного ряда	Анемия, нейтропения, тромбоцитопения, количество моноцитов не более $1 \cdot 10^9$ /л, бластов не более 1%
РАКС	Содержание бластов менее 5%, кольцевых сидеробластов более 15%	Анемия, количество моноцитов не более $1 \cdot 10^9$ /л, бластов не более 1%
РАИБ	Содержание бластов не менее 5%	Анемия, количество моноцитов не более $1 \cdot 10^9$ /л, бластов менее 5%
РАИБ-Т	Содержание бластов более 20% (но менее 30%) или наличие бластов с палочками Ауэра	Содержание бластов более 5% или наличие бластов с палочками Ауэра
ХММЛ	Содержание бластов не более 20%, повышенное количество промоноцитов	Содержание бластов менее 5%, моноцитов более $1 \cdot 10^9$ /л, повышенное количество гранулоцитов

Примечание. РА — рефрактерная анемия, РАКС — рефрактерная анемия с кольцевыми сидеробластами, РАИБ — рефрактерная анемия с избытком бластов, РАИБ-Т — рефрактерная анемия с избытком бластов с трансформацией, ХММЛ — хронический миеломоноцитарный лейкоз.

Кроме того, путем цитохимического анализа могут быть выявлены диспластические изменения в клетках различных ростков гемопоэза. Например, для МДС характерно отсутствие миелопероксидазы в зрелых нейтрофилах, α -нафтилацетатэстеразы — в зрелых моноцитах, снижение активности щелочной фосфатазы в нейтрофильных гранулоцитах. Цитохимическое определение железа позволяет идентифицировать кольцевые сидеробласты и на основании их числа (менее или более 15%) дифференцировать такие формы МДС, как РА и РАКС.

Гистологическое исследование костномозговых трепанобиоптатов проводят крайне редко, в основном с целью дифференциальной диагностики МДС с апластической анемией при наличии в костном мозге признаков гипоплазии и выраженного фиброза.

К числу заболеваний, с которыми также проводят дифференциальную диагностику МДС, относятся V_{12} -дефицитная, наследственная сидеробластная и аутоиммунная гемолитическая анемии, пароксизмальная ночная гемоглобинурия, иммунная тромбоцитопения, тромботическая тромбоцитопеническая пурпура, хронический миелолейкоз, волосатоклеточный лейкоз, миеломная болезнь и другие.

Контрольные вопросы и задания

1. Дайте определение понятий «гематосаркома», «лейкоз».
2. Какие признаки опухолевой природы лейкозов вам известны?
3. Этиология и патогенез лейкозов. Мутационно-клоновая теория развития лейкозов. Классификация лейкозов по патогенетическому принципу.
4. Назовите клинические синдромы лейкозов, их проявления и патогенез.
5. Представьте алгоритм лабораторной диагностики лейкозов.
6. Каковы особенности процедуры иммунофенотипирования бластных клеток при острых лейкозах?
7. Что понимается под термином «острый лейкоз»?
8. ФАБ-классификация острых лимфобластных и миелоидных лейкозов.
9. EGIL-классификация острых лимфобластных лейкозов.
10. Перечислите стадии клинического течения острых лейкозов. Дайте определение понятий «ремиссия» и «рецидив» лейкозов, их классификацию, клинико-лабораторные признаки.
11. Назовите критерии лабораторной диагностики острых лейкозов.
12. Опишите лабораторные признаки (цитогенетические аномалии, цитохимические, иммунофенотипические и цитоморфологические особенности бластных клеток, картина костного мозга и периферической крови) отдельных ФАБ-вариантов острых лимфобластных лейкозов: L1—L3.
13. Опишите лабораторные признаки (цитогенетические аномалии, цитохимические, иммунофенотипические и цитоморфологические особенности бластных клеток, картина костного

мозга и периферической крови) отдельных ФАБ-вариантов острых лимфобластных лейкозов: М0—М7.

14. Какие критерии диагностики бифенотипических и недифференцированных острых лейкозов вам известны?

15. Что понимается под термином «хронический лейкоз»?

16. Приведите цитоморфологическую классификацию хронических лейкозов.

17. Перечислите стадии клинического течения хронических лейкозов.

18. Опишите клинико-лабораторные признаки хронических миелопролиферативных лейкозов: хронического миелолейкоза, хронического миеломоноцитарного лейкоза, хронического нейтрофильного, эозинофильного, базофильного и тучноклеточного лейкозов, истинной полицитемии, эссенциальной тромбоцитемии, хронического идиопатического миелофиброза с миелоидной метаплазией.

19. Опишите клинико-лабораторные признаки хронических В-лимфопротиферативных хронических лейкозов: хронического лимфолейкоза, волосатоклеточного лейкоза, множественной миеломы, макроглобулинемии Вальденстрема.

20. Назовите клинико-лабораторные признаки хронических Т-лимфопротиферативных хронических лейкозов: болезни Сезари, лейкоза из больших гранулосодержащих лимфоцитов.

21. Что понимается под термином «миелодиспластические синдромы»? Дайте их ФАБ-классификацию, перечислите методы диагностики, лабораторные признаки основных форм.

Тесты для контроля знаний

1. Укажите варианты острых миелоидных лейкозов:

- а) лимфобластный лейкоз;
- б) эритролейкоз;
- в) миелобластный лейкоз;
- г) миеломная болезнь;
- д) мегакариобластный лейкоз;
- е) монобластный лейкоз;
- ж) истинная полицитемия;
- з) промиелоцитарный лейкоз;

и) недифференцированный лейкоз;

к) миеломонобластный лейкоз.

2. К основным клиническим синдромам острых лейкозов относятся:

а) интоксикация;

б) дегидратация;

в) лейкемическая инфильтрация висцеральных органов;

г) гемоконцентрация;

д) геморрагии;

е) инфекционные осложнения;

ж) анемия;

з) протеинурия;

и) желтуха.

3. Анемия при остром лейкозе обуславливается:

а) нарушением продукции эритропоэтина;

б) образованием аутоантител к эритроцитам;

в) угнетением эритропоэза в костном мозге;

г) дефицитом витаминов и микроэлементов;

д) кровопотерей;

е) нарушением всасывания железа;

ж) образованием дефектных эритроцитов вне костного мозга.

4. Критерием диагноза впервые выявленного острого лейкоза служит:

а) наличие более 10% бластных клеток в гемограмме;

б) наличие более 10% бластных клеток в костном мозге;

в) наличие более 30% бластных клеток в костном мозге;

г) наличие бластных клеток в гемограмме в сочетании с анемией и тромбоцитопенией;

д) наличие бластных клеток в миело- и гемограмме в сочетании со сплено- и гепатомегалией.

5. Лабораторными показателями достижения полной ремиссии острого лейкоза являются:

а) исчезновение бластных клеток из периферической крови;

б) исчезновение бластных клеток из костного мозга;

в) не более 10% бластных клеток в костном мозге;

г) не более 5% бластных клеток в костном мозге;

- д) нормализация уровня гемоглобина и гранулоцитов.
- 6. К общим лабораторным признакам острого лимфобластного лейкоза относятся:
 - а) транслокация между хромосомами 8 и 21;
 - б) транслокация между хромосомами 9 и 22;
 - в) положительная реакция бластных клеток крови на гликоген в гранулярной форме;
 - г) положительная реакция бластных клеток крови на гликоген в диффузной форме;
 - д) наличие палочек Ауэра в бластных клетках крови;
 - е) появление в периферической крови бластных клеток с бобовидными ядрами и серо-голубой (дымчатой) цитоплазмой, содержащей пылевидную азурофильную зернистость;
 - ж) гиперплазия эритроидного ростка костного мозга;
 - з) появление в периферической крови бластных клеток с округлыми ядрами и узкой светло-голубой незернистой цитоплазмой;
 - и) гиперплазия лимфоидного ростка костного мозга.
- 7. Цитохимическими маркерами бластных клеток крови при остром миелобластном лейкозе являются:
 - а) резко положительная реакция на миелопероксидазу;
 - б) резко положительная реакция на неспецифическую эстеразу;
 - в) отрицательная реакция на липиды;
 - г) положительная реакция на липиды;
 - д) положительная реакция на гликоген в виде гранул;
 - е) положительная реакция на гликоген в виде диффузного окрашивания;
 - ж) слабая реакция на кислые сульфатированные мукополисахариды.
- 8. При каком типе лейкоза в бластных клетках крови выявляются положительные реакции на пероксидазу, липиды, гликоген (в диффузной форме), неспецифическую эстеразу и отрицательная реакция на кислые мукополисахариды:
 - а) острый лимфобластный лейкоз;
 - б) острый промиелоцитарный лейкоз;
 - в) острый миелобластный лейкоз;

- г) эритролейкоз;
- д) острый монобластный лейкоз.

9. Укажите изменения в периферической крови, характерные для хронического лимфолейкоза:

- а) наличие не менее 30% бластных клеток с цитоморфологическими признаками малых лимфоцитов;
- б) наличие в периферической крови голых ядер лимфоцитов;
- в) относительный и абсолютный лимфоцитоз;
- г) токсогенная зернистость в нейтрофилах;
- д) наличие двухъядерных лимфоцитов (форм Ридера);
- е) нормохромная анемия;
- ж) положительная реакция лимфоцитов костного мозга и периферической крови на гликоген (в гранулярной форме) и кислую фосфатазу;
- з) положительная реакция лимфоцитов костного мозга и периферической крови на гликоген (в гранулярной форме) и отрицательная — на кислую фосфатазу;
- и) присутствие в периферической крови теней Боткина—Гумпрехта;
- к) тромбоцитопения;
- л) гипергаммаглобулинемия;
- м) нейтрофилия.

10. Укажите изменения в периферической крови, характерные для хронического миелолейкоза:

- а) содержание миелобластов в периферической крови 2–3%;
- б) эозинофильно-базофильная ассоциация;
- в) нейтрофилия;
- г) токсогенная зернистость в нейтрофилах;
- д) лимфопения;
- е) анизо- и пойкилоцитоз эритроцитов;
- ж) тромбоцитопения;
- з) присутствие в периферической крови теней Боткина—Гумпрехта;
- и) увеличение ОКЛ;
- к) увеличение в периферической крови числа созревающих форм гранулоцитов;

- л) «лейкемическое зияние»;
- м) нейтропения.

11. Ведущими диагностическими признаками множественной миеломы являются:

- а) нейтрофилия;
- б) плазмоцитоз костного мозга (не менее 10% в миелограмме);
- в) лимфопения;
- г) снижение вязкости крови;
- д) протеинурия Бенс-Джонса;
- е) парапротеинемия не менее 3 г/дл;
- ж) мочевого М-градиент;
- з) повреждения костей скелета;
- и) снижение СОЭ;
- к) снижение уровня нормальных иммуноглобулинов в сыворотке крови (менее 50% от нормы).

Ответы к тестовым заданиям

- | | |
|-------------------------|-----------------------------|
| 1 — б, в, д, е, з, и, к | 7 — а, г, е |
| 2 — а, в, д, е, ж | 8 — д |
| 3 — в | 9 — б, в, д, е, ж, и, к |
| 4 — а, е, ж, з | 10 — а, б, в, д, е, ж, и, к |
| 5 — а, г, д | 11 — б, д, е, ж, з, к |
| 6 — б, в, з, и | |

Ситуационные задачи

Задача 1. Больной А., 70 лет, поступил в клинику в тяжелом состоянии с признаками интоксикации и геморрагического диатеза.

Объективно: кожа и слизистые бледные, с множественными мелкоклеточными образованиями коричневого цвета, болезненными при пальпации. Гепато- и спленомегалия. При ультразвуковом исследовании обнаружен карбункул почки.

Анализ крови:

содержание эритроцитов — $1,4 \cdot 10^{12}/л$;

гемоглобина — 35 г/л;

цветовой показатель — 0,75;

ОКЛ — $140 \cdot 10^9/\text{л}$;

количество тромбоцитов — $60 \cdot 10^9/\text{л}$.

Лейкоцитарная формула, %:

Бф	Эо	Нейтрофилы				Лф	Мон	Бласты
		М	ММ	П/я	С/я			
2	6	4	6	10	52	12	6	2

Примечание. В мазках периферической крови обнаружены анизо- и пойкилоцитоз эритроцитов. В костном мозге количество бластов — 38%. При цитохимическом исследовании в бластных клетках выявлены положительные реакции на пероксидазу, липиды и гликоген (в диффузной форме).

Дайте обоснованное заключение о нарушении в системе крови. Объясните механизм развития клинических симптомов.

Задача 2. Больной Л., 42 года, поступил в клинику в тяжелом состоянии.

Объективно: температура тела 40 °С. На коже определяют множественные синюшного оттенка округлые папулезные инфильтраты диаметром до 1 см. Результаты осмотра ротовой полости: десны нависают над зубами, гиперемированы, выявляются красные участки, напоминающие кровоизлияния. Гепатомегалия.

Анализ крови:

содержание эритроцитов — $1,5 \cdot 10^{12}/\text{л}$;

гемоглобина — 45 г/л;

цветовой показатель — 0,9;

ОКЛ — $150 \cdot 10^9/\text{л}$;

количество тромбоцитов — $75 \cdot 10^9/\text{л}$.

Лейкоцитарная формула, %:

Бф	Эо	Нейтрофилы				Лф	Мон
		М	ММ	П/я	С/я		
0	0	0	0	0	14	7	79

Примечание. В мазках периферической крови — анизоцитоз, пойкилоцитоз эритроцитов. В костном мозге — 59% бластных клеток крупных размеров с уродливыми ядрами и дымчатой цитоплазмой с мелкими азурофильными гранулами. При цитохимическом исследовании в бластных клетках выявлена резко положительная реакция на неспецифическую эстеразу (подавляемая фторидом натрия), слабая реакция — на пероксидазу, липиды и гликоген (в диффузной форме).

Сделайте мотивированное заключение о патологии системы белой крови.

Задача 3. Больной Б., 62 года. Обратился к врачу с жалобами на беспричинное повышение температуры (чаще в вечернее время суток), постоянные ноющие боли в поясничном отделе позвоночника, приобретающие простреливающий характер при движениях. Лечился по поводу радикулита. Эффекта от терапии не отмечает.

Анализ крови:

содержание эритроцитов — $1,9 \cdot 10^{12}/\text{л}$;

гемоглобина — 60 г/л;

цветовой показатель — 1,0;

ОКЛ — $29 \cdot 10^9/\text{л}$;

количество тромбоцитов — $110 \cdot 10^9/\text{л}$.

Лейкоцитарная формула, %:

Бф	Эо	Нейтрофилы				Лф	Мон	Бласты
		М	ММ	П/я	С/я			
0	0	0	0	0	10	8	2	80

Примечание. В стерильном пунктате — тотальная бластная инфильтрация. При цитохимическом исследовании бластных клеток выявлена положительная реакция на гликоген (PAS-материал в виде гранул), реакции на миелопероксидазу, липиды и неспецифическую эстеразу — отрицательные.

Дайте обоснованное заключение о нарушении в системе крови.

Задача 4. Больной С., 62 года. Поступил в клинику с жалобами на одышку, кашель, слабость.

Объективно: кожа и слизистые бледные. Все группы лимфоузлов увеличены, каменистой плотности, болезненные при пальпации. В легких выслушиваются сухие хрипы. Гепато- и спленомегалия.

Анализ крови:

содержание эритроцитов — $3,3 \cdot 10^{12}/\text{л}$;

гемоглобина — 85 г/л;

цветовой показатель — 0,77;

ОКЛ — $100 \cdot 10^9/\text{л}$;

количество тромбоцитов — $70 \cdot 10^9/\text{л}$.

Лейкоцитарная формула, %:

Бф	Эо	Нейтрофилы				Лф	Мон	Бласты
		М	ММ	П/я	С/я			
0	0	0	0	0	15	73	5	7

Примечание. В мазке крови обнаруживаются тени Боткина–Гумпрехта (3–5 в поле зрения). При цитохимическом исследовании выявлены положительная реакция бластных клеток на гликоген (в виде гранул) и отрицательная реакция на пероксидазу и липиды.

Сделайте мотивированное заключение о патологии системы белой крови.

Задача 5. Больная И., 34 года. Поступила в клинику с жалобами на повышение температуры тела (39°C), общую слабость, недомогание.

Объективно: бледность кожных покровов, тахикардия, лимфоузлы и селезенка не увеличены. Печень выступает из подреберья на 3 см.

Анализ крови:

содержание эритроцитов — $2,4 \cdot 10^{12}/\text{л}$;

гемоглобина — 56 г/л;

лейкоцитов — $144 \cdot 10^9/\text{л}$;

тромбоцитов — $59 \cdot 10^9/\text{л}$.

Лейкоцитарная формула, %:

Бф	Эо	Нейтрофилы				Лф	Мон
		М	ММ	П/я	С/я		
0	4	8	5	7	23	52	1

Примечание. В костном мозге: 10% миелобластов, 8,5% промиелоцитов, 24,4% нейтрофильных миелоцитов, 12% — нейтрофильных метамиелоцитов, 11,2% палочкоядерных нейтрофилов, 16,3% сегментоядерных нейтрофилов, 2,09% эозинофилов, 0,1% базофилов. При цитохимическом исследовании выявлена положительная реакция бластных клеток на пероксидазу. В нейтрофильных гранулоцитах реакция на щелочную фосфатазу — отрицательная.

Дайте обоснованное заключение о нарушении в системе белой крови.

Задача 6. Больная Ж., 63 года. Поступила в клинику с жалобами на повышение температуры тела ($38,6^{\circ}\text{C}$), прогрессирующую слабость, потливость, немотивированный зуд кожи, потерю в весе, нарушение зрения. Последний год отмечает кровоточивость из десен и носа.

Анализ крови:

СОЭ 35 мм/ч,

содержание эритроцитов — $2,4 \cdot 10^{12}/\text{л}$;

гемоглобина — 56 г/л;

лейкоцитов — $4,3 \cdot 10^9/\text{л}$;

тромбоцитов — $79 \cdot 10^9/\text{л}$.

Лейкоцитарная формула, %:

Бф	Эо	Нейтрофилы				Лф	Мон
		М	ММ	П/я	С/я		
0	2	0	0	0	23	72	1

Примечание. В лимфоцитах имеются признаки плазматизации. В костном мозге плазматических клеток – 32%, тучных клеток – 1,2%.

В крови гиперпротеинемия (35 г/л), макроглобулинемия (IgM – 34% от общего содержания при норме 5–10%). При рентгенологическом исследовании признаков деструкции костной ткани не обнаружено.

Дайте обоснованное заключение о патологии системы белой крови.

Литература

1. *Абрамов М.Г.* Гематологический атлас. М.: Медицина, 1985. 344 с.
2. *Андреева Н.Е.* Диагностика и лечение множественной миеломы. М.: Новартис, 2001. 28 с.
3. *Воробьев А.И., Кременецкая А.М., Лорие Ю.Ю.* «Старые» и «новые» опухоли лимфатической системы // Терапевт. арх. 2000. № 7. С. 9–13.
4. *Гольдберг Е.Д.* Справочник по гематологии. Томск: Изд-во Том. ун-та, 1989. 468 с.
5. *Голенков А.К., Шабалин В.Н.* Множественная миелома. СПб.: Гиппократ, 1995. 144 с.
6. *Гусева С.А., Вознюк В.П.* Болезни системы крови: 2-е изд., доп., перераб. М.: МедПресс-информ, 2004. 488 с.
7. *Диагностика лейкозов.* Атлас и практическое руководство / Под ред. Д.Ф. Глузмана. Киев: Морион ЛТД, 2000. 224 с.
8. *Клиническая онкогематология* / Под ред. М.А. Волковой. М.: Медицина, 2001. 576 с.
9. *Котоян Э.Р.* Клиническая гематология. М.: Медицинское информационное агентство, 2003. 246 с.
10. *Луговская С.А., Почтарь М.Е.* Гематологический атлас. М.; Тверь: Триада, 2004. 227 с.
11. *Основы клинической гематологии: Справочное пособие* / Под ред. В.Г. Радченко. СПб.: Диалект, 2003. 304 с.

12. *Руководство по гематологии*: В 3 т. / Под ред. А.И. Воробьёва. М.: Ньюдиамед, 2002. Т. 1. 280 с.
13. *Руководство по гематологии*: В 3 т. / Под ред. А.И. Воробьёва. М.: Ньюдиамед, 2003. Т. 2. 280 с.
14. *Шиффман Ф.Дж.* Патофизиология крови. Пер. с англ. М.; СПб.: БИНОМ; «Невский диалект», 2000. 448 с.
15. *Яворковский Л.И., Рязова Л.Ю., Соловей Д.Я. и др.* Миелодиспластический синдром. Рига: Занатне, 1992. 166 с.
16. *Dimopoulos M.A., Ranayiotidis P., Moulopoulos L.A. et al.* Waldenstrom's macroglobulinemia: clinical features, complications and management // *J. Clin. Oncol.* 2000. Vol. 18. P. 214–225.
17. *Hess J. L., Zuffer M.M., Castlrberry R.P. et al.* Juvenile chronic myelogenous leukemia // *Am. J. Clin. Pathol.* 1996. Vol. 105. P. 238–248.
18. *Ibrahim S., Keating M., Do K.A. et al.* CD38 expression as an important prognostic factor in B-cell chronic lymphocytic leukemia // *Blood.* 2001. Vol. 98. № 1. P. 181–186.
19. *Jaffe E.S., Harris N.L., Stein H. et al.* Pathology and genetics of tumors of heamotopoietic and lymphoid tissues. Lion: IARC Press, 2001. 357 p.
20. *Ludwig H., Meran J., Zojer N.* Multiple myeloma: an update on biology and treatment // *Ann. Oncol.* 1999. Vol. 10, Suppl. 6. P. 31–43.
21. *Michels J.J., Barbui T., Finazzi G. et al.* Diagnosis and treatment of polycythemia vera and possible future study design of the PVSG // *Leuk. Lymph.* 2000. Vol. 36, № 3–4. P. 239–253.
22. *Pileri S.A., Ascani S., Leoncini L. et al.* Nodgkin's lymphoma: the pathological viewpoint // *J. Clin. Pathol.* 2002. Vol. 55. P. 162–176.
23. *Ruffini R.A., Kwak L.W.* Immunotherapy of multiple myeloma // *Sem. Hematol.* 2001. Vol. 38. № 3. P. 260–267.
24. *Small B.M.* Myelodysplastic syndromes. Buffalo: State University of N.Y., 1997. P. 1–16.

Глава 6

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА НАРУШЕНИЙ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА

Актуальность проблемы своевременной диагностики нарушений системы гемостаза обусловлена фактом, что не только врожденные дефекты этой системы, но и многие соматические заболевания, хирургические вмешательства, акушерские манипуляции сопровождаются нарушениями различных его звеньев. В последнее время значимость исследования свертывающей системы крови также связана с активным применением в клинической практике антитромботической терапии.

Корректная оценка нарушений системы гемостаза требует знания как основ физиологии и патофизиологии гемостатических процессов, так и алгоритмов их лабораторной диагностики. Основными функциями системы гемостаза являются поддержание жидкого состояния крови и купирование повреждений сосудистой стенки. Первыми в ответ на повреждение реагируют кровеносные сосуды и клетки: происходит спазм микрососудов, активация эндотелиоцитов и тромбоцитов, секреция этими клетками биологически активных веществ, адгезия и агрегация тромбоцитов, образование тромбоцитарной пробки. Затем включаются плазменные ферментные системы, лавинообразно активирующие друг друга и обеспечивающие образование фибринового сгустка, препятствующего потере крови. Противосвертывающая система антитромбина III, протеина С и ряда других белков осуществляет регулирование механизма свертывания и фибринолиза.

Нарушение тонкого баланса взаимодействия всех этих компонентов, в том числе из-за врожденной недостаточности некоторых из них, приводит к развитию различных патологических

процессов и состояний (тромбофилии, геморрагии, вазопатии).

Разделение системы гемостаза на сосудисто-тромбоцитарное и коагуляционное звенья позволяет в лабораторной практике выделять группы тестов, специфически характеризующих эти составляющие. Необходимо помнить, что *in vivo* между всеми компонентами системы гемостаза существует тесная взаимосвязь, поэтому *in vitro* оценка результатов лабораторных исследований должна быть комплексной.

Основные принципы исследования системы гемостаза

Показаниями к проведению коагулологических исследований являются:

- необходимость определения причины кровоточивости;
- распознавание причин развития и склонности к тромбофилии;
- формирование больных группы риска для профилактики тромбоэмболий и кровотечений в послеоперационном (послеродовом) периоде;
- диагностика ДВС-синдрома при неотложных и критических состояниях;
- оценка состояния системы гемостаза при выраженных нарушениях углеводного, белкового и липидного обменов;
- контроль за лечением антикоагулянтами, антиагрегантами, фибринолитиками и эффективностью терапии препаратами, содержащими компоненты крови.

Для получения достоверного заключения о характере нарушений системы гемостаза следует помнить о возможных ошибках преаналитического этапа:

- 1) нарушения правил взятия крови для исследования (соотношение стабилизатора и крови, длительный стаз крови, использование несиликонизированной посуды);
- 2) несоблюдение требований по хранению и доставке крови для исследования;
- 3) необоснованное или малоинформативное направление на исследование, что влечет за собой существенные экономические потери;

4) недостаточная подготовка пациента, отсутствие учета возможного влияния медикаментов (гепарина, антиагрегантов, кровезаменителей).

Направление на исследование, заполняемое врачом, кроме обычных указаний (Ф.И.О. больного, возраст и др.) должно содержать дополнительную информацию: время забора крови для исследования, клинический диагноз, указание на наличие геморрагических (носовых, маточных и других кровотечений) и (или) тромботических проявлений, шока, полиорганной недостаточности, травмы (ожоговой и др.); информацию о проводимом лечении, способном оказать влияние на параметры гемостаза (аспирин и другие антиагреганты, антикоагулянты, тромболитики, ингибиторы фибринолиза, гормональные контрацептивы, декстраны, полиглюкины, гемо- и плазмотрансфузии и др.), дозировке препаратов, способе и сроках последнего введения.

Алгоритм лабораторной диагностики нарушений гемостаза

Наиболее частыми проявлениями патологии гемостаза выступают различного вида кровоточивость либо тромбофилические состояния, а также венозные или артериальные тромбозы различной локализации. Диагностика характера нарушений системы гемостаза представляет собой сложный процесс (рис. 6.1). Определение причины нарушений системы гемостаза считается необходимым условием для проведения патогенетической терапии и своевременной профилактики.

На основании клинико-анамнестических данных устанавливаются наличие кровоточивости (табл. 6.1) или тромбоза (облитерации) кровеносных сосудов, предполагается характер нарушения системы гемостаза. Для выявления преобладающих нарушений в том или ином звене системы выполняется обязательный объем лабораторных исследований (табл. 6.2). С целью уточнения локализации дефекта в системе гемостаза исследование дополняется специальными методами (табл. 6.3, 6.4).

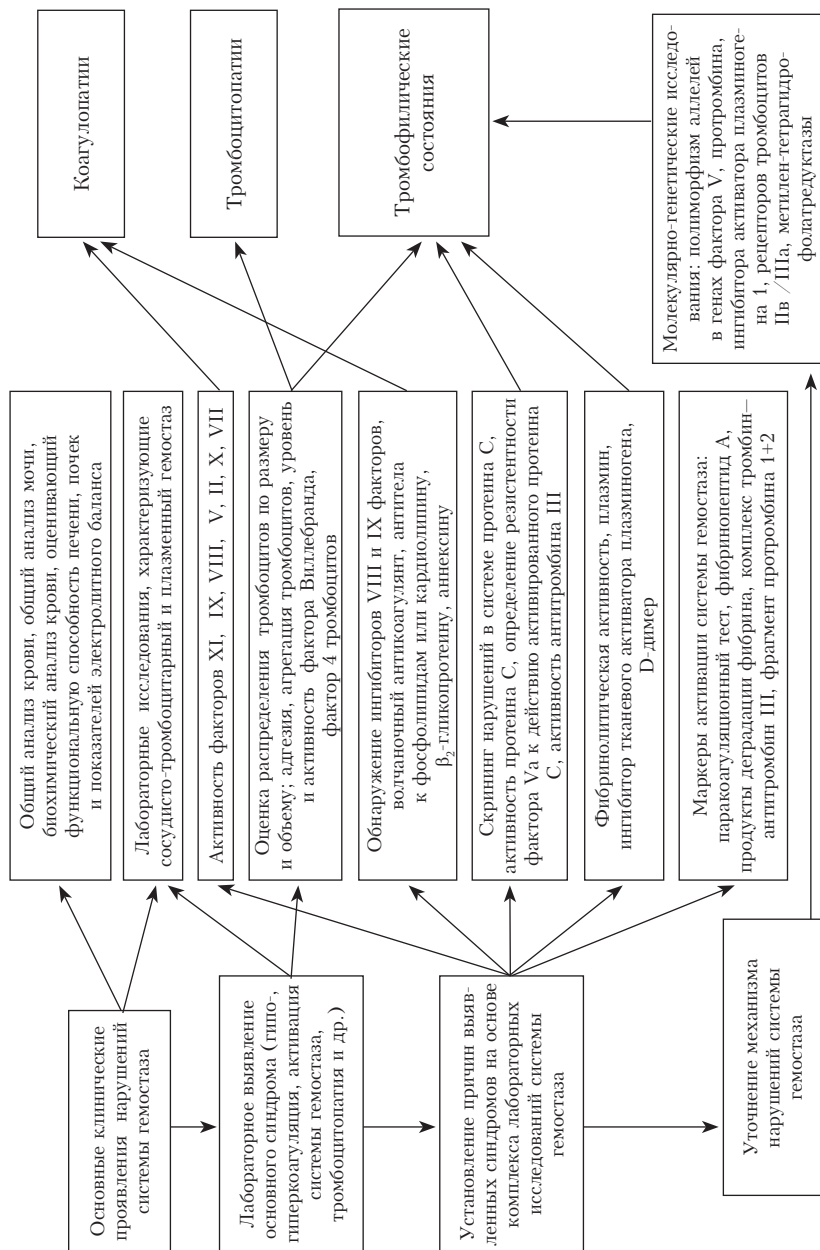


Рис. 6.1. Алгоритм диагностического поиска при нарушениях системы гемостаза

Т а б л и ц а 6.1

**Определение характера кровоточивости на основе клинических проявлений
(по данным И.Н. Бокарева и соавт., 2002)**

Клиническое проявление	Характер кровотечений	
	Капиллярный (тромбоцитарно-сосудистый дефект системы гемостаза)	Коагуляционный (дефект плазменного компонента системы гемостаза)
Кровотечения в результате поверхностных повреждений	Частые, профузные и длительные	Редкие, не очень выраженные
Спонтанные кровоподтеки и гематомы	Небольшие поверхностные, часто множественные	Обширные и глубокие, обычно изолированные
Кожная и слизистая пурпура	Очень часто	Редко
Кровоизлияния в суставы	Очень редкие	Частые
Кровотечения вследствие глубоких повреждений, удаления зубов и т.п.	Обычно начинаются сразу. Часто прекращаются при применении местных гемостатических средств	Возникают с запозданием, почти не прекращаются под влиянием местных гемостатических средств
Макрогематурия	Не характерна (чаще микрогематурия)	Характерна

Т а б л и ц а 6.2

Обязательный объем лабораторных исследований при первичном обследовании больных

Тесты, характеризующие сосудисто-тромбоцитарный гемостаз	Тесты, характеризующие плазменно-коагуляционный гемостаз
Определение резистентности микрососудов	Каолиновое время свертывания плазмы
Длительность кровотечения	Активированное парциальное тромбопластиновое время
Число тромбоцитов	Протромбиновое время
Спонтанная агрегация тромбоцитов	Тромбиновое время
Адгезия тромбоцитов	Концентрация фибриногена
Индукцированная агрегация тромбоцитов	

Т а б л и ц а 6.3

Дополнительные методы исследования при определении причин кровоточивости

Метод исследования	Патология
Фактор Виллебранда	Менее 55% активности
Факторы VIII и XIII	Менее 40% активности
Факторы протромбинового комплекса	Менее 10–20% активности

Т а б л и ц а 6.4

Дополнительные методы исследования для распознавания тромбофилий

Метод исследования	Патология
Активность антитромбина III	Менее 70%
Скрининг нарушений в системе протенина С	Нормализованное отношение менее 0,8 усл. ед.
Уровень растворимого фибрина (ортофенантролиновый тест)	Свыше 10 мг в 100 мл
Выявление волчаночного антикоагулянта (ВА)	Циркуляция в плазме ВА
Уровень антител к кардиолипину	Более 10 МЕ/л
Снижение активности плазминогена	Менее 70 %
Уровень гомоцистеина в крови	Свыше 11 мкг/мл
ПЦР-диагностика генетических дефектов	Мутация гена фактора V, протромбина G20210A, метилентетрагидрофолатредуктазы

Роль сосудистой стенки в осуществлении гемостаза

Эндотелий обладает сосудосуживающими и сосудорасширяющими свойствами, а также антитромботическим потенциалом и способностью продуцировать вещества, которые усиливают агрегацию тромбоцитов и свертывание крови. Под влиянием различных патологических факторов, приводящих к повреждению сосудов, антитромботический эндотелиальный потенциал меняется на тромбогенный. Такими повреждающими эндотелий факторами являются экзо- и эндотоксины (в первую очередь бактериальные); атеросклеротический процесс; антиэндотелиальные и антифосфолипидные антитела; медиаторы воспаления (провоспалительные простагландины, интерлейкины, фактор некроза опухоли, лейкотриены и др.); высокая активность клеточных и плазменных протеолитических ферментов (эластазы, трипсина и др.); диабетическая ангиопатия. В качестве маркеров повреждения сосудов эндотелия рассматривается ряд факторов, которые синтезируются в эндотелиоцитах и мегакариоцитах (табл. 6.5).

Т а б л и ц а 6.5

Маркеры повреждения эндотелия сосудов (по данным А.П. Момота, 2004)

Молекулярный маркер	Место образования	Значения нормы
Фактор Виллебранда в плазме	Мегакариоциты, эндотелий	До 25,0 мкг/л
Ингибитор активации плазминогена (PAI-1)	Эндотелий	(1,4 ± 0,7) нг/мл

Окончание табл. 6.5

Молекулярный маркер	Место образования	Значения нормы
Тканевой активатор пламиногена	Эндотелий	$(3,1 \pm 1,3)$ нг/мл
Ингибитор тканевого пути свертывания	Эндотелий	$(43,0 \pm 11,0)$ нг/мл
Эндотелин-1	Эндотелий	$(307,0 \pm 72,0)$ пг/мл
Растворимый тромбомодулин	Эндотелий	$(5,2 \pm 2,6)$ нг/мл
Простациклин	Эндотелий	$(90,0 \pm 20,0)$ пг/мл

Методы оценки тромбоцитарного звена гемостаза

Тромбоциты играют важную роль в первичном сосудисто-тромбоцитарном гемостазе и плазменных реакциях свертывания. Влияние их на систему гемостаза реализуется через адгезивно-агрегационную функцию и выделение биологически активных веществ. Активированные тромбоциты взаимодействуют со структурами поврежденного эндотелия, плазменными свертывающими белками, обеспечивая образование тромбоцитарной пробки тромбина. Для характеристики тромбоцитарного компонента гемостаза в клинике используют ряд лабораторных методов исследования.

Определение числа тромбоцитов выполняют с использованием гематологического анализатора или путем подсчета в камере Горяева. Количество тромбоцитов составляет в норме $(170-350) \cdot 10^9/\text{л}$. В клинике состояние, сопровождающееся снижением тромбоцитов менее $100 \cdot 10^9/\text{л}$, считают тромбоцитопенией. Геморрагические проявления отмечаются при уменьшении количества тромбоцитов до $70 \cdot 10^9/\text{л}$. Продолжительность жизни тромбоцитов в кровотоке составляет 7–8 дней.

Оценка морфологии и размера тромбоцитов считается необходимым исследованием в любом диагностическом алгоритме тромбоцитопений и тромбоцитопатий. Различают несколько форм тромбоцитов:

- микроформы (менее 2 мкм) – 2–15%;
- мезоформы (2–4 мкм) – 82–89%;
- макроформы (более 4 мкм) – 1–11%;
- мегаформы (более 5,5 мкм) – 0–1%.

Морфологическое исследование тромбоцитов позволяет выявить варианты изменения их размеров. Преобладание в мазках

микроформ тромбоцитов может быть признаком наследственной патологии: (синдром Вискотта—Олдрича). Увеличение числа макроформ тромбоцитов наблюдается при их усиленной регенерации (тромбоцитопении, системные васкулиты).

Определение *степени зрелости тромбоцитов (тромбоцитограмма)*. Нормальная тромбоцитарная формула характеризуется следующим соотношением тромбоцитов: юные — до 1%, зрелые — 90–95%, старые — 2–5%, дегенеративные — до 0,02%, формы раздражения — 1–2%.

Определение *времени кровотечения (ВК)* позволяет оценить состояние сосудов после взаимодействия тромбоцитов с сосудистой стенкой. Для оценки ВК используют:

1) метод Айви: после наложения манжетки на верхнюю часть плеча и создания в ней давления 40 мм рт. ст. делается разрез на коже сгибательной поверхности предплечья (1 × 9 мм) с помощью одноразовой матрицы. В норме ВК составляет 3,0–8,5 мин;

2) метод Дьюка: определяется длительность кровотечения после дозированного прокола (глубина 3,5 мм) мочки уха; нормальное ВК не превышает 4 мин.

Время кровотечения стандартизовано для числа тромбоцитов более $100 \cdot 10^9/\text{л}$. Снижение их количества приводит к прогрессивному увеличению ВК. При первичных нарушениях сосудистой стенки ВК отклоняется от нормы (например, при сосудистой пурпуре) так же, как при качественных нарушениях тромбоцитов и болезни Виллебранда. Однако метод не выявляет нарушений коагуляционного гемостаза и не отражает состояния системы гемостаза в целом, в связи с чем показатели ВК не используются для оценки риска развития послеоперационного кровотечения.

Для характеристики *активности фактора Виллебранда* используют:

1) определение ристоцетининдуцированной агрегации тромбоцитов. Метод основан на способности антибиотика ристоцетина (ристомидина) вызывать агрегацию тромбоцитов при наличии на их мембране специфических гликопротеиновых рецепторов GP Ib в присутствии фактора Виллебранда. Способность

тромбоцитов к агрегации при добавлении ристоцетина находится в прямой зависимости от активности данного фактора в плазме крови больного;

2) ристоцетининдуцированную агрегацию с отмытых стандартизированных тромбоцитов при добавлении бестромбоцитарной плазмы больного (источник фактора Виллебранда). Нормальные величины активности фактора составляют 50–120%;

3) иммуноферментный метод.

Исследование *агрегации тромбоцитов* проводят при подозрении на тромбоцитопатию, т.е. при удлинённом времени кровотечения и нормальном числе тромбоцитов (табл. 6.6).

Т а б л и ц а 6.6

Исследование функциональных свойств тромбоцитов

Патология		Агрегационный ответ		
		Аденозин-дифосфат	Коллаген	Ристоминин
Нарушение адгезии и структуры мембраны тромбоцитов	Болезнь Виллебранда	Норма	Норма	Отсутствует / гиперагрегация (на низкие дозы)
	Синдром Бернара—Сулье	Норма	Норма	Отсутствует / снижена
	Тромбастения Гланцмана	Отсутствует	Отсутствует	Норма
Дефекты активации тромбоцитов	Дефицит α -гранул	Отсутствует вторая волна агрегации	Отсутствует	Норма
	Дефицит плотных гранул	Отсутствует вторая волна агрегации	Снижен	Норма
Нарушение метаболизма арахидоновой кислоты	Аспириноподобный синдром	Снижен	Снижен	Норма

Данные лабораторных исследований имеют решающее значение для постановки диагноза. Однако необходимо учитывать, что изменения показателей, регистрируемых в лабораторных тестах, часто обнаруживаются лишь в момент геморрагического эпизода. Нормальные лабораторные показатели не исключают вероятность кровоточивости (рекомендуются повторные, часто многократные обследования).

Алгоритмы обследования больных с кровоточивостью

При отсутствии достоверных клиничко-анамнестических данных обследование пациента с кровоточивостью целесообразно начинать с определения времени кровотечения (рис. 6.2, 6.3). Первоочередное изучение тромбоцитарного компонента гемостаза логично еще и потому, что 80% всех случаев повышенной кровоточивости связано с патологией тромбоцитов, в 18–20% случаев причиной кровотечения являются нарушения плазменного компонента гемостаза и лишь в 1–2% – дефект сосудистой стенки.



Рис. 6.2. Алгоритм обследования больных с кровоточивостью при увеличенном времени кровотечения



Рис. 6.3. Алгоритм обследования больных с кровоточивостью при нормальном времени кровотечения: АЧТВ — активированное частичное тромбопластиновое время; ПВ — пластиновое время; ТВ — тромбопластиновое время

Ниже приведено описание указанных на рис. 6.2 и 6.3 программ.

Программа 1. Увеличение времени кровотечения при сниженном количестве тромбоцитов. Проводится подсчет числа мегакариоцитов и морфологическая оценка их состояния в пунктатах костного мозга. При снижении количества мегакариоцитов и нарушении отшнуровки тромбоцитов вероятна недостаточность костномозгового кроветворения, обусловленная влиянием лекарственных препаратов или поражением костного мозга при опухолях. При нормальном или повышенном количестве мегакариоцитов проводится исследование морфологии тромбоцитов, изменения которой свидетельствуют о конституциональных

повреждениях тромбоцитов (аномалия Мэя—Хегглина — гигантские тромбоциты, синдром Бернара—Сулъе).

Программа 2. *Увеличение времени кровотечения при нормальном количестве тромбоцитов.* Такое сочетание лабораторных показателей характерно как для тромбоцитопатий, так и для сосудистых нарушений. Для исключения дефекта тромбоцитов необходимо исследовать их функциональные свойства: адгезия (прилипание к стеклу, коллагену); агрегация, индуцированная аденозиндифосфатом (АДФ), адреналином, коллагеном, тромбином и ристоцетином; реакция высвобождения (фактор III, АДФ, b-тромбоглобулин); ретракция кровяного сгустка. Результаты этих исследований позволяют диагностировать тромбоцитопатии, нозологическая принадлежность которых обусловлена нарушением тех или иных функциональных свойств тромбоцитов. Изменения свойств могут наблюдаться при уремии, макроглобулинемии Вальденстрема, миеломной болезни, заболеваниях печени и другой патологии, а также при действии ряда лекарств (ацетилсалициловая кислота, тиклопедин, сульфинпиразон, дипиридамол, нестероидные противовоспалительные препараты, декстран и др.).

Программа 3. *Увеличение времени кровотечения при повышенном количестве тромбоцитов.* При повышении количества тромбоцитов необходимо исключать:

1) реактивный тромбоцитоз, характерный для злокачественных новообразований с метастазами, хронических инфекционных заболеваний, спленэктомии, обширного повреждения тканей (переломы костей нижних конечностей, оперативные вмешательства);

2) тромбоцитемию при первичном миелопролиферативном заболевании. Тромбоцитемия представляет собой лишь одну из форм миелопролиферативного синдрома, который проявляется также истинной полицитемией (болезнь Вакеза) и хроническим миелолейкозом. При этом увеличение количества тромбоцитов сочетается с неполноценностью их функциональных свойств в виде:

— повышенной спонтанной агрегации, клинически проявляющейся феноменом Рейно, преходящими приступами ишемии

мозга, тромбозами селезеночной и (или) воротной вены, вен нижних конечностей и коронарных сосудов сердца;

— слабого агрегационного ответа тромбоцитов на действие физиологических индукторов с повышенной склонностью к геморрагиям слизистых оболочек, что проявляется носовыми кровотечениями, кровавой рвотой, меленой, гематурией, кровохарканьем и меноррагиями.

Программа 4. *Нормальное время кровотечения с изменением показателей плазменного гемостаза.* Такое сочетание лабораторных показателей характерно для гемофилий. Тяжесть геморрагического синдрома связана со степенью дефекта фактора свертывания. Точный диагноз заболевания (указание конкретного пораженного фактора или группы факторов) устанавливается на основании лабораторных данных (анализ результатов определения АЧТВ, ПВ, ТВ, выполнения коррекционных проб и использования дефицитных плазм). При выраженном увеличении АЧТВ и нормальном протромбиновом времени проводится дифференциальная диагностика дефицита VIII, IX и XI факторов (табл. 6.7)

Таблица 6.7

Дифференциация дефицита факторов VIII, IX и XI

Лабораторный тест	Результат при дефиците факторов			
	VIII	IX	XI	Иммунный ингибитор
АЧТВ при добавлении адсорбированной плазмы	Норма	Увеличено	Норма	Увеличено
АЧТВ при добавлении старой сыворотки	Увеличено	Норма	Норма	Увеличено
АЧТВ при добавлении смеси адсорбированной плазмы и сыворотки	Норма	Норма	Норма	Увеличено

При одновременном увеличении времени свертывания в протромбиновом и АЧТВ-тестах необходимо оценивать активность факторов II, V, VII и X (табл. 6.8). Дефицит их может наблюдаться при дисфункции печеночных клеток, при приеме оральных антикоагулянтов, при аутоиммунных заболеваниях, при гиперчувствительности к лекарственным препаратам (антибиотики, нитрофураны, сульфаниламиды и др.).

Дифференциация дефицита факторов VII, V и X, II протромбинового комплекса в тестах с гетерогенными коагулазами

Лабораторный тест	Дефицитные факторы		
	VII	V и X	II
Лебетоксовый (яд гюрзы)	Норма	Нарушение	Нарушение
Эхитоксовый (яд эфы)	Норма	Норма	Нарушение
Протромбиновый	Нарушение	Нарушение	Нарушение

Факт повышенного фибринолиза как причина кровоточивости устанавливается по следующим лабораторным данным: выявление увеличения ТВ, ускорения лизиса эуглобулинового сгустка и повышения уровня продуктов деградации фибрина (ПДФ). Кровотечения, возникающие у больных после операций на предстательной железе, небных миндалинах, при гиперменорее, язвенном поражении желудочно-кишечного тракта, а также при посттравматических кровоизлияниях в среды глаза (гифемах) могут быть связаны с избыточным фибринолизом.

Программа 5. *Увеличенное или нормальное время кровотечения и неизменные тесты плазменного гемостаза.* Увеличенное (или нормальное) время кровотечения при нормальных показателях плазменного гемостаза указывает на дефект сосудистой стенки, что приводит к нарушению взаимодействия тромбоцитов со стенкой сосуда и к кровоточивости. Клинический диагноз основывается на характере кожных и слизистых геморрагий в сочетании с особенностями конкретной нозологической формы. Нозологический диагноз подтверждается на основании морфологического изучения сосудов. Среди заболеваний сосудистой стенки выявляются как врожденные (наследственная геморрагическая телеангиэктазия, генерализованная фибродисплазия эластических волокон; сосудистые опухоли), так и приобретенные формы (васкулиты (например, болезнь Шенлейна—Геноха) геморрагическая саркома Капоши, узловая эритема, пигментный дерматит).

Программа 6. *Лабораторная диагностика болезни Виллебранда.* Гетерогенность молекулярных дефектов продукции фактора Виллебранда обуславливает разнообразие лабораторных проявлений болезни. В различных сочетаниях наблюдаются

ся следующие изменения результатов лабораторных исследований:

- увеличение времени кровотечения (особенно при обострении заболевания);
- снижение ристоцетининдуцированной агрегации тромбоцитов;
- повышение ристоцетининдуцированной агрегации тромбоцитов на минимальные дозы индуктора;
- нормальные показатели агрегации тромбоцитов в условиях индуцирования агрегационной активности адреналином, АДФ;
- снижение активности фактора Виллебранда в плазме крови;
- снижение (или норма) уровня антигена, связанного с фактором Виллебранда, в плазме и тромбоцитах;
- снижение активности фактора VIII разной степени выраженности (при добавлении нормальной плазмы или криопреципитата наступает нормализация показателя);
- частое нарушение адгезии тромбоцитов.

Исследование плазменного коагуляционного гемостаза

Среди известных в настоящее время в лабораторной практике методов исследования плазменного гемостаза можно условно выделить четыре группы тестов:

1) тесты, характеризующие в основном внешний путь образования протромбиназы: протромбиновое время и протромбиновый индекс;

2) тесты, характеризующие в основном внутренний путь образования протромбиназы: активированное частичное тромбопластиновое время, активированное время рекальцификации (каолиновое время);

3) тесты, характеризующие конечный этап свертывания: тромбиновое время и концентрацию фибриногена в плазме;

4) тесты, характеризующие непосредственно активность факторов свертывания (VIII, IX, XIII и т.д.).

Протромбиновое время (ПВ) — это время образования фибрина в плазме или крови при добавлении к ней ионов кальция и тканевого тромбопластина определенной чувствительно-

сти и активности. Результат теста зависит от уровня факторов протромбинового комплекса (VII-, X-, V- и II-протромбина). Результат определения ПВ выражают по одному из следующих вариантов:

1) ПВ представляют в секундах. В норме время составляет 11–14 с при измерении на коагулометре и 13–16 с при мануальной технике определения;

2) определяют протромбиновое отношение (ПО) в условных единицах по формуле:

$$\text{ПО} = \text{ПВ}_{\text{больного}} / \text{ПВ}_{\text{контрольной нормальной плазмы}}$$

Протромбиновое отношение в норме составляет от 0,7 до 1,1 усл.ед;

3) рассчитывают величину международного нормализованного отношения (МНО) по формуле:

$$\text{МНО} = (\text{ПВ}_{\text{больного}} / \text{ПВ}_{\text{контрольной нормальной плазмы}})^{\text{МИЧ}},$$

где МИЧ – международный индекс чувствительности используемого тромбопластина, который указывается производителем препарата.

Нормальное значение МНО колеблется от 0,85 до 1,15.

Определение протромбинового времени в единицах МНО является основой лабораторного контроля терапии непрямыми антикоагулянтами.

Увеличение ПВ отмечается:

- при дефиците или аномалии факторов VII, X, протромбина и приеме не прямых антикоагулянтов;
- проведении массивных гемотрансфузий, на фоне переливания реополиглюкина;
- болезни печени и желчного пузыря;
- потреблении факторов свертывания при ДВС-синдроме в фазу гипокоагуляции;
- наличии патологических ингибиторов (продукты расщепления фибрина, миеломные белки, волчаночный антикоагулянт).

Активированное частичное тромбопластиновое время – время свертывания плазмы в условиях стандартизированной контактной (каолином или элаговой кислотой) и фосфолипидной активации (кефалином) в присутствии ионов кальция.

Определение АЧТВ используется для выявления гипер- и гипокоагуляционных сдвигов, диагностики дефицита факторов XII, XI, IX и VIII, болезни Виллебранда, контроля за гепаринотерапией. В норме величина АЧТВ составляет 25–38 с. Увеличение АЧТВ отмечается:

- при дефиците или аномалии факторов свертывания XII, XI, IX, VIII;
- наличии патологических ингибиторов (продукты расщепления фибрина, миеломные белки, волчаночный антикоагулянт);
- терапии нефракционированным гепарином;
- потреблении факторов свертывания при ДВС-синдроме в фазу гипокоагуляции.

Тромбиновое время (ТВ) — время свертывания плазмы крови под действием тромбина. Тест используется для выявления нарушений конечного этапа свертывания крови. В норме ТВ составляет 14–17 с. Увеличение результатов теста наблюдается при снижении уровня фибриногена менее 1,0 г/л, при структурных аномалиях фибриногена, при терапии гепарином и прямыми ингибиторами тромбина, а также при циркуляции в кровотоке продуктов деградации фибрина и фибриногена.

Определение содержания фибриногена в плазме является широко применяемым тестом не только в диагностике нарушений гемостаза, но и при оценке тяжести воспалительных, иммунных, деструктивных и неопластических процессов, при которых развивается гиперфибриногенемия как острофазная реакция. В последние годы сформулировано также представление о фибриногене как о новом независимом факторе риска сердечно-сосудистых заболеваний и рекомендовано его определение для прогноза и оценки эффективности лечения инфаркта миокарда, стенокардии и инсульта. Наиболее часто применяемым в лабораторной практике является хронометрический метод по Клаусу, когда концентрация фибриногена определяется по времени свертывания плазмы под действием избытка высокоактивного тромбина. Нормальные значения содержания фибриногена в плазме крови составляют 2–4 г/л.

Результаты исследования основных показателей плазменного гемостаза (ПВ, АЧТВ, ТВ, содержание фибриногена в плазме)

позволяют получить представление об уровне плазменных факторов свертывания крови.

1. Увеличение протромбинового времени при нормальных показаниях активированного частичного тромбопластинового и тромбинового времени свойственно дефициту фактора VII.

2. Увеличение АЧТВ при нормальных значениях протромбинового и тромбинового времени наблюдается при дефиците или ингибировании факторов VIII, IX, XI и XII. При этом наиболее часто (в 97% случаев) встречается снижение уровня или ингибирование активности факторов VIII и IX, а также дефицит фактора Виллебранда (рис. 6.4).

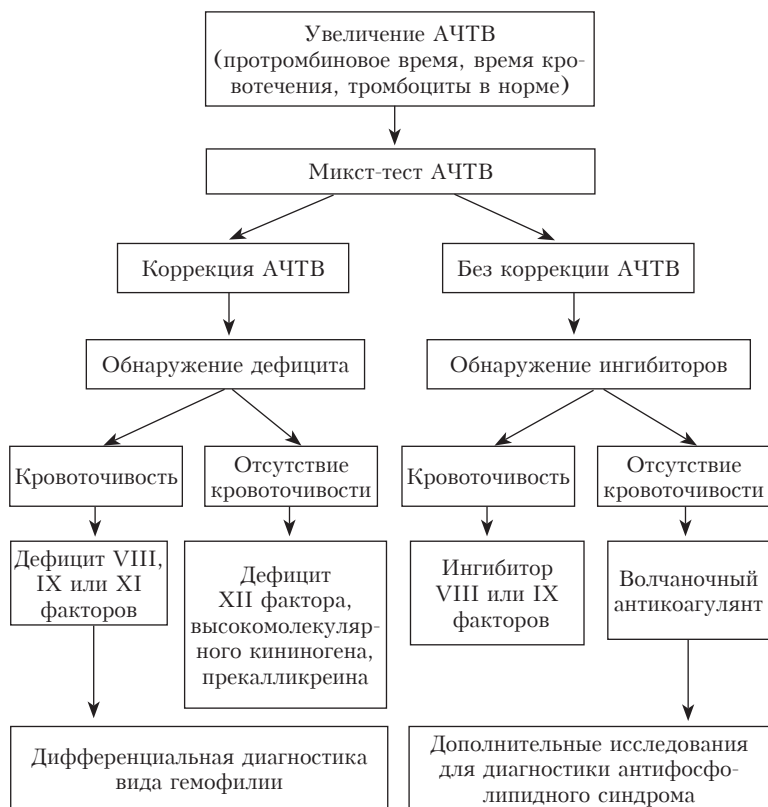


Рис. 6.4. Оценка пролонгированного значения активированного частичного тромбопластинового времени

3. Увеличение ТВ характерно для дисфибриногенемий и нарушений полимеризации фибрин-мономеров (под влиянием продуктов деградации фибрина, парапротеинов).

4. Увеличение как АЧТВ, так и протромбинового времени при нормальных показателях тромбинового теста и фибриногена в плазме более 1,0 г/л отмечается при дефиците факторов X, V и II, а также при воздействии не прямых антикоагулянтов (варфарин, фенилин).

Исследование системы физиологических антикоагулянтов

Равновесие в системе свертывания крови поддерживают естественные антикоагулянты, к которым в первую очередь относятся антитромбин III, система протеина C, тромбомодулин, гепарин и ряд других компонентов.

Система протеина C. Протеин C — витамин K-зависимая сериновая протеаза, время его полужизни в крови составляет 8–12 ч, концентрация в плазме — 4–5 мкг/мл. Активированный протеин C расщепляет Va и VIIIa факторы свертывания. Протеин C связывается с ингибитором тканевого активатора плазминогена 1-го типа, в результате чего угнетается свертывание и ускоряется процесс фибринолиза. Кофактором протеина C является протеин S. Концентрация его в плазме крови составляет 25 мг/л. Протеин S способен взаимодействовать с C4b-связывающим протеином системы комплемента (связано около 60% протеина S плазмы). Обе формы протеина S (свободная и связанная) могут взаимодействовать с активированным протеином C, однако лишь свободная обладает кофакторной активностью.

Лабораторные исследования нарушений в системе протеина C выполняются в АЧТВ-тестах с использованием активатора протеина C (яд мокасинового щитомордника). Определяется величина АЧТВ до и после внесения в плазму данного активатора и рассчитывается коэффициент — нормализованное отношение. Нормальные значения этого показателя варьируют от 0,69 до 1,56 усл. ед. Если определение активированного протеина C проводится с использованием хромогенных субстратов, то

активность протеина С выражается в процентах (нормальные значения 70–140%).

Определение содержания протеина S выполняется с использованием функциональных (коагулометрических) и иммунологических методов. Последние позволяют определить уровень свободной и общей фракции протеина S в плазме крови.

Среди клинически здоровой популяции людей в 10–15% случаев встречается точечная мутация гена фактора V. Результатом этой аномалии является низкая чувствительность, т.е. резистентность, фактора Va (фактор V (Лейден)) к действию активированного протеина С (АПС). Для выявления резистентности фактора V к АПС определяют соотношение АЧТВ плазмы крови пациента с добавлением и без добавления активированного протеина С. Затем полученное соотношение сравнивают с аналогичным соотношением у здорового человека. Для больных с мутантным фактором V характерно увеличение АЧТВ более чем в 2 раза по сравнению с нормой.

Определение *активности антитромбина III*. Антитромбин III — гликопротеин, синтезируемый гепатоцитами и являющийся важнейшим компонентом противосвертывающей системы. Он инактивирует тромбин и активированные факторы X, IX, XI, XII. Антикоагулянтная активность гликопротеина значительно возрастает в присутствии гепарина, без которого инактивация тромбина антитромбином III замедленна. В то же время последний является плазменным кофактором гепарина: без антитромбина III гепарин почти не проявляет антикоагулянтного эффекта.

Для определения активности антитромбина III используют функциональные иммунологические методы, к которым относятся клотинговые и амидолитические способы. В норме активность этого антикоагулянта составляет 85–115%.

Исследование фибринолитической системы

Фибриновый сгусток, образовавшийся в результате свертывания крови, подвергается лизису под влиянием ферментов фибринолитической системы крови (плазмин и его неактивный

предшественник плазминоген, активатор плазминогена и его ингибиторы). Основу фибринолиза составляет процесс расщепления фибрина плазмином на фрагменты — ПДФ. Сам же плазмин образуется в результате активации плазминогена плазмой крови. Плазминоген может активироваться различными путями, наиболее важным из которых является индукция тканевым активатором плазминогена (ТАП), который синтезируется и высвобождается эндотелиальными клетками.

Методы исследования функциональной активности фибринолитической системы следующие.

1. Оценка лизиса сгустка «эуглобулиновой» фракции плазмы. Полный лизис сгустка в норме происходит за 3–4 ч. Резкое его замедление наблюдается при дефиците (истощении) плазминогена в крови, а ускорение — при естественном (эндогенном) или искусственном усилении фибринолиза (например, при введении стрептокиназы, урокиназы или ТАП). Однако следует помнить, что результаты теста зависят от содержания фибриногена в исследуемой плазме.

2. Исследование фибринолиза на пластинах фибрина, очищенного от плазминогена и антиплазминов, и на хромогенных субстратах, специфически расщепляемых плазмином.

3. Определение эуглобулинового лизиса в плазме до и после компрессии сосудов плеча в течение 20 мин при давлении, равном диастолическому, либо в течение 3 мин при давлении выше систолического на 10 мм рт. ст. Проба отражает поступление тканевого активатора плазминогена из стенок сосудов в кровь.

4. Определение эуглобулинового лизиса после искусственной контактной активации фактора XII каолином (в норме составляет 4–10 мин).

5. Исследование эуглобулинового лизиса после добавления в плазму стрептокиназы и (или) урокиназы. Незначительное ускорение лизиса свидетельствует о дефиците в исследуемой крови плазминогена.

6. Определение плазминогена с использованием хромогенных субстратов (в норме составляет 75–140%).

Определение маркеров активации свертывающей системы крови и фибринолиза

Активация свертывающей и фибринолитической системы крови в большинстве случаев возникает сопряженно. В связи с этим в плазме крови одновременно возрастает количество продуктов протеолиза, факторов свертывания (фрагмент протромбина 1 + 2), комплексных соединений (тромбин — антитромбин III, плазмин — антиплазмин, D-димер), фибринопептида А, растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК) и других компонентов.

Наиболее доступными и информативными являются методы определения в плазме содержания РФМК и D-димера.

Определение *количества РФМК* выполняется с помощью ортофенантролина. У здоровых доноров референтные значения теста составляют 30–40 мкг/мкл, у больных с тромбозами и ДВС-синдромом отмечается их повышение в 2,5–10 раз.

Для определения *D-димера* используются различные группы методов: иммуноферментные, иммуногурбидиметрические, методы на основе латексной агглютинации. Во всех методах применяются моноклональные антитела к неоантигенным эпитопам на D-димере, которые образуются при расщеплении нерастворимого фибрина плазмином. Уровень D-димера в норме не превышает 500 нг/мл.

Определение риска тромбоза

В настоящее время предрасположенность к возникновению тромботических заболеваний и осложнений обозначается термином «тромбофилия». Она развивается вследствие генетических или приобретенных дефектов в системе гемостаза. Для каждого из видов тромбофилий характерны определенные нарушения в тех или иных звеньях гемостаза. В табл. 6.9 представлены основные методы лабораторной диагностики для распознавания первичных и вторичных тромбофилий.

**Лабораторная диагностика основных форм тромбофилий
(по данным З.С. Баркагана, 1999)**

Основные формы тромбофилий	Лабораторные методы диагностики
<i>Гемореологические формы</i>	
Полиглобулии, полицитемии, синдромы повышенной вязкости крови	Определение числа эритроцитов, тромбоцитов крови, их спонтанной агрегации; определение гематокрита, СОЭ
Гемоглобинопатии, протекающие со снижением деформируемости эритроцитов	Определение формы, размера, среднего объема, деформируемости эритроцитов, типа Hb, интенсивности гемолиза
Формы, связанные с гипервязкостью плазмы (парапротеинемии, гиперфибриногенемии)	Вискозиметрия плазмы и сыворотки, определение уровня фибриногена, парапротеинов, криоглобулинов, тяжелых и легких цепей иммуноглобулинов
<i>Формы, обусловленные нарушениями сосудисто-тромбоцитарного гемостаза</i>	
Тромбоцитемии и гипертромбоцитозы	Определение числа тромбоцитов в крови и оценка их гистограммы
Повышенная спонтанная агрегация и адгезивность тромбоцитов и (или) повышенная чувствительность к агонистам агрегации	Определение спонтанной и стимулированной агрегации тромбоцитов
Гиперпродукция фактора Виллебранда, снижение антиагрегантного потенциала плазмы	Определение ристомин-агрегации, уровня фактора Виллебранда в плазме и связанного с ним антигена, а также мультимерности
<i>Формы, связанные с дефицитом и (или) аномалиями первичных физиологических антикоагулянтов</i>	
Дефицит и (или) аномалия антитромбина III, протейна С, протейна S	Определение активности и антигена антитромбина III, его сродства к гепарину, определение активности протейнов С и S
Дефицит и (или) аномалия ингибитора внешнего пути активации свертывания крови	Определение ингибитора внешнего пути активации свертывания крови
<i>Формы, связанные с дефицитом или аномалиями плазменных факторов свертывания крови и фибринолиза</i>	
Аномалия фактора V (Лейден), резистентность к активированному протейну С	Тест резистентности к активированному протейну С, определение аномалий гена фактора V
Аномалии протромбина	Генетическое исследование мутации (протромбин 20210 G(A))
Тромбогенные дисфибриногенемии	Тромбиновое и анцистроновое время свертывания, уровень фибринопептида А и В, определение скорости полимеризации фибрин-мономера, определение лизиса фибрина

О к о н ч а н и е т а б л. 6.9

Основные формы тромбофилий	Лабораторные методы диагностики
Дефицит и (или) аномалии плазминогена	Ослабление всех видов фибринолиза, устраняемое добавлением в плазму плазминогена
Дефицит и нарушение ТАП	Ослабление активации эуглобулинового фибринолиза при проведении манжеточной пробы
Высокий уровень ингибиторов ТАП (PAI-I, PAI-2)	Определение активности ТАП, PAI-I, PAI-2, альфа-2-антиплазмина
<i>Аутоиммунные и инфекционно-иммунные формы тромбофилии</i>	
Первичный антифосфолипидный синдром	Определение волчаночного антикоагулянта коагуляционными фосфолипидзависимыми методами, определение антител к фосфолипидам, антител к β_2 -гликопротеину-1, аннексину V, фактору II
Вторичный АФС при системных иммунных заболеваниях и опухолях	Диагностика основного заболевания, развернутое исследование системы гемостаза, определение волчаночного антикоагулянта, определение антител к фосфолипидам
Вторичный АФС при тромбозах	Диагностика основного заболевания, развернутое исследование системы гемостаза, определение волчаночного антикоагулянта, определение антител к фосфолипидам, эндотелию, нейтрофилам
<i>Метаболические формы с комплексом нарушений в разных звеньях системы гемостаза</i>	
Диабет, гиперлипидемии	Диагностика нарушений липидного и углеводного обмена; развернутое исследование коагуляционного и тромбоцитарного гемостаза
Гипергомоцистеинемия (гомоцистеинурия)	Определение уровня гомоцистеина в плазме крови и суточной моче, верификация мутации MTHFR
<i>Ятрогенные (в том числе медикаментозные) формы</i>	
При катетеризации сосудов, стентировании и шунтировании сосудов, протезировании клапанов сердца, имплантации кавальных фильтров, тромбэктомии	Учет тромбогенных воздействий; развернутое исследование коагуляционного и тромбоцитарного гемостаза
При лечении гепарином (гепариновая тромботическая тромбоцитопения)	Учет динамики количества тромбоцитов в крови на 6-й и 12-й дни после начала лечения гепарином или другими препаратами
При приеме контрацептивов	Учет тромбогенных воздействий; развернутое исследование коагуляционного и тромбоцитарного гемостаза
<i>Паранеопластические формы</i>	
Синдром Труссо	Выявление основного заболевания

Лабораторная диагностика антифосфолипидного синдрома

Антифосфолипидный синдром (АФС) — симптомокомплекс, проявляющийся венозными и артериальными тромбозами, различными формами акушерской патологии, тромбоцитопенией, разнообразными неврологическими, сердечно-сосудистыми, кожными заболеваниями. В основе его лежит образование в организме в высоком титре специфических антител, взаимодействующих с отрицательно заряженными мембранными фосфолипидами и связанными с ними гликопротеинами. Антитела к фосфолипидам представляют собой гетерогенную популяцию, реагирующую с отрицательно заряженными (кардиолипин, фосфатидилсерин, фосфатидилинозитол и фосфатидные кислоты), реже нейтральными (фосфатидилэтаноламин) фосфолипидами и (или) фосфолипидсвязывающими сывороточными белками (β -2-гликопротеин-1, аннексин V, протромбин). Антитела блокируют фосфолипидно-белковые комплексы свободных фосфолипидных микровезикул плазмы крови и клеточных мембран эндотелия и тромбоцитов. Наиболее часто в клинике для диагностики АФС используют определение антител к кардиолипину класса IgG и IgM и обнаружение волчаночного антикоагулянта (табл. 6.10). Значительно реже исследуют уровень специфических антител к фосфатидилсерину, фосфатидилинозитолу и фосфатидилэтаноламину, а также к β -2-гликопротеину-1, аннексину V и протромбину.

Таблица 6.10

**Распространенность различных антител к фосфолипидам
(по данным Е.Л. Насонова, 2004)**

Показатель	Частота встречаемости, %
Антитела к кардиолипину	87,9
IgG и IgM	32,1
Только IgG	43,6
Только IgM	12,2
Волчаночный антикоагулянт	12,1
Волчаночный антикоагулянт и антикардиолипиновые антитела	41,5

Результатом действия антифосфолипидных аутоантител является, с одной стороны, снижение тромборезистентности эндотелия и активация тромбоцитарного гемостаза, а с другой

стороны — нарушения в системе коагуляционного гемостаза. Эти нарушения связаны с развитием тромбофилического состояния *in vivo*, при котором активация факторов Va, Ха и протромбина сочетается с депрессией противосвертывающих механизмов (системы протеина С, тромбомодулина и фибринолиза) и проявляются *in vitro* развитием гипокоагуляции в так называемых фосфолипидзависимых тестах. Клинические и лабораторные критерии диагностики антифосфолипидного синдрома, сформулированные в 1998 г. на VIII Международном симпозиуме по антителам к фосфолипидам в Саппоро (Япония), представлены в табл. 6.11 и 6.12.

Т а б л и ц а 6.11

Клинические критерии диагностики антифосфолипидного синдрома

Критерий	Клинические признаки
Сосудистые тромбозы	Один и более клинических эпизодов артериального, венозного тромбоза или тромбоза сосудов малого диаметра в любой ткани или органе, за исключением поверхностных венозных тромбозов. Тромбоз должен быть подтвержден картиной ультразвукового доплеровского сканирования или данными гистологического исследования. Тромбоз должен быть представлен значительными изменениями сосудистой стенки воспалительного характера
Заболевания беременных	1. Один или более необъяснимых случаев смерти морфологически нормального плода на 10-й нед нормальной беременности или позже (нормальная морфология плода должна быть документирована данными ультразвукового сканирования или непосредственным исследованием плода). 2. Один или более случаев преждевременных родов морфологически нормального плода к 34-й нед беременности или ранее вследствие тяжелой преэклампсии, эклампсии или тяжелой плацентарной недостаточности. 3. Три или более необъяснимых последовательных аборта до 10-недельного срока беременности при отсутствии у женщины патологических, анатомических аномалий или гормональных нарушений (генетические причины должны быть исключены у отца и у матери)

Т а б л и ц а 6.12

Лабораторные критерии диагностики антифосфолипидного синдрома

Критерий	Лабораторные признаки
Антитела к кардиолипину	Ложноположительная реакция Вассермана; умеренный или высокий уровень антител к кардиолипину класса IgG и (или) IgM в крови в 2 исследованиях или более, полученных с интервалом не менее 6 нед, измеренных путем стандартного метода ИФА для β -2-гликопротеин-1-зависимых антител к кардиолипину

О к о н ч а н и е т а б л. 6.12

Критерий	Лабораторные признаки
Волчаночный антикоагулянт	<p>Позитивный тест на наличие волчаночного антикоагулянта в плазме в 2 исследованиях или более, полученных с интервалом не менее 6 нед. Волчаночный антикоагулянт должен определяться согласно указаниям Международного общества тромбоза и гемостаза в соответствии со следующими этапами:</p> <p>а) установление факта удлинения фосфолипидзависимой фазы свертывания плазмы крови по результатам скрининговых тестов (АЧТВ, каолиновое время, тест Рассела с разведением, протромбиновое время с разведением);</p> <p>б) невозможность коррекции увеличенного времени скрининговых тестов путем смешивания с нормальной бестромбоцитарной плазмой;</p> <p>в) сокращение времени скрининговых тестов или его нормализация после добавления в исследуемую плазму избытка фосфолипидов и исключение других коагулопатий (наличие ингибитора VIII фактора или гепарина)</p>

Появление антител к мембранным фосфолипидам может быть связано с наличием в организме бактериальной (стафилококковой, стрептококковой) или вирусной (вирус Эпштейна—Барра, цитомегаловирус, вирус гепатита В) инфекции, развитием аллергии к лекарственным препаратам (хинидин, гидролазин, фенотиазин, α -интерферон). Очень часто кардиолипидовые антитела определяются при ревматических заболеваниях, системных коллагенозах, аутоиммунных эндокринных заболеваниях, а также на фоне злокачественных новообразований. При тромботических проявлениях у пациента необходима уточняющая лабораторная диагностика нарушений системы гемостаза и ряда других факторов риска тромбозов для надежного распознавания антифосфолипидного синдрома (табл. 6.13).

Т а б л и ц а 6.13

Патологические состояния, с которыми необходимо дифференцировать антифосфолипидный синдром (по данным Е.Л. Насонова, 2004)

Патология	Локализация тромбоза		
	Венозный	Венозный и артериальный	Артериальный
Дефицит или патология факторов свертывания	Резистентность к активированному белку С, дефицит в системе протеннов С, дефицит антитромбина, мутация гена протромбина	—	—
Нарушение фибринолитической активности крови	Дефицит плазминогена и тканевого активатора плазминогена	Дисфибриногенемия, дефицит ингибитора активатора плазминогена типа 1	—

О к о н ч а н и е т а б л. 6.13

Патология	Локализация тромбоза		
	Венозный	Венозный и артериальный	Артериальный
Метаболические нарушения	—	Гипергомоцистемия	Нарушения углеводного и липидного обмена
Дефекты тромбоцитов	—	Индукцированная гепарином тромбоцитопения, миелопролиферативные заболевания	—
Стаз крови	Иммобилизация, хирургические операции, застойная сердечная недостаточность	—	—
Повышение вязкости крови	—	Эритроцитоз и эритремия, макроглобулинемия Вальденстрема, серповидноклеточная анемия, острый лейкоз	—
Поражение сосудистой стенки	—	Васкулиты	Хроническое воспаление

Лабораторная диагностика ДВС-синдрома

ДВС-синдром — неспецифический общепатологический процесс, связанный с поступлением в кровоток активаторов свертывания крови и агрегацией тромбоцитов, диссеминированным микросвертыванием крови, активацией и истощением плазменных протеолитических систем, потреблением физиологических антикоагулянтов и факторов свертывания крови, образованием в зоне микроциркуляции микросгустков и агрегатов клеток крови (Момот А.П., 2006). Вследствие развивающегося процесса происходит блокада микроциркуляции в органах-мишенях, гипоксия, дистрофия и дисфункция этих органов.

Основные цели лабораторной диагностики ДВС-синдрома заключаются в том, чтобы обоснованно провести:

- отграничение ДВС-синдрома от других форм геморрагий;
- распознавание ДВС-синдрома на ранних доклинических и малосимптомных этапах его развития;
- определение в каждом конкретном случае преобладающего механизма развития ДВС (гипокоагуляция, гиперагрегация тромбоцитов, депрессия физиологических антикоагулянтов);

— оценку степени дисфункции отдельных звеньев систем гемостаза.

Своевременная лабораторная диагностика и адекватная патогенетическая терапия позволяют снизить частоту летальных исходов с 50 до 10–15% случаев. При наличии соответствующей клинической ситуации и признаков ДВС-синдрома выявление совокупности хотя бы 4–5 лабораторных признаков должно рассматриваться как подтверждение диагноза и служить основанием для проведения необходимой патогенетически обоснованной терапии. При этом лабораторное обследование больных не ограничивается методами оценки системы гемостаза. Важен мониторинг гематокритного показателя, уровня гемоглобина, кислотно-щелочного равновесия, электролитного баланса, диуреза, мочевых симптомов. В табл. 6.14 представлены лабораторные диагностические критерии ДВС-синдрома.

Таблица 6.14

Лабораторные проявления ДВС-синдрома

Лабораторное проявление	Метод исследования	Выявляемые изменения	Частота развития, %
Изменения числа тромбоцитов	Подсчет числа тромбоцитов	Менее $130 \cdot 10^9/\text{л}$	79
Гипо- или гиперкоагуляция	АПТВ, ТВ, ПВ, эхитоксовое время	Увеличение или уменьшение	55
Разнонаправленность изменения коагуляционных тестов	АПТВ, ТВ, ПВ, эхитоксовое время	Увеличение или уменьшение	85
Несвертывание крови	Тест Ли–Уайта	Свертывание крови не происходит	95
Повышение РФМК	Ортофенантролиновый тест	Более 10 мг в 100 мл	78
Снижение уровня антитромбина III	Определение активности	Ниже 70%	89
Снижение плазминогена	Определение активности	Ниже 70%	82
Нарушения в системе протеина С	Скрининговый глобал-тест	Нормализованное отношение ниже 1,1 усл. ед.	72
Концентрация D-димера в плазме	Латексный экспресс-тест	Выше 500 нг/мл	81
Активация тромбоцитов	Спонтанная агрегация тромбоцитов	Более 20%	70
Повреждение эритроцитов	Исследование распределения эритроцитов в градиенте плотности при центрифугировании	Более 500 клеток в интерфазе	80

В некоторых случаях клинические проявления нарушения системы гемостаза могут быть идентичными таковым при ДВС-синдроме. В такой ситуации результаты лабораторных исследований могут влиять на выбор тактики терапевтических лечебных мероприятий. В табл. 6.15 приведен ряд основных лабораторных тестов, на которых может базироваться дифференциальная диагностика коагулопатических синдромов различного генеза.

Таблица 6.15

**Лабораторные показатели при коагулопатических синдромах различного генеза
(по данным А.И. Карпищенко, 2001)**

Коагуло- грамма	ДВС-синдром			Гемоди- люция	Гипер- гепари- немия	Печеночная недостаточ- ность
	Фаза гиперкоа- гуляции	Фаза пот- ребления	Фаза генерали- зации			
Число тромбоцитов	N	↓	↓↓	↓	N	N
АЧТВ	N или ↑ или ↓	↑	↑↑	↑	↑	↑
ПВ	N или ↑	↓	↓↓	↓	↓	↓↓
Концентрация фибриногена	N или ↑	↓	↓↓	N или ↓	N	↓
Тромбиновое время	N или ↓	↑	∞	N или ↑	∞	↑
ПДФ	—	— (+)	+	—	—	—
Д-димер	N или ↑	↑	↑↑	↑	↓	↑↑

Примечание. N — нормальные значения показателей; «↑» / «↓» — умеренное увеличение / снижение лабораторных показателей соответственно; «↑↑» / «↓↓» — значительное увеличение / снижение лабораторных показателей соответственно; «∞» — полная несвертываемость крови, «+» — наличие ПДФ; «—» — отсутствие ПДФ.

Современные принципы лабораторного контроля за антитромботической терапией

Лекарственные препараты, используемые для купирования или профилактики тромбозов в различных отделах кровеносного русла, условно делятся на четыре основные группы.

1. Ингибиторы функции тромбоцитов (ацетилсалициловая кислота и тиенопиридины).

2. Антикоагулянты гепаринового ряда: нефракционированный гепарин, низкомолекулярные гепарины (клексан, фраксин, фраксипарин).

3. Ингибиторы синтеза в печени витамин К-зависимых факторов свертывания (варфарин, синкумар, пелентан, фенилин).

4. Препараты, корригирующие метаболические и воспалительные повреждения сосудистого эндотелия.

Лабораторный мониторинг лечения антикоагулянтами гепаринового ряда

Нефракционированный гепарин (НФГ) — антикоагулянт, состоящий из смеси гликозаминогликанов с различной молекулярной массой (5–30 кДа). Гепарин оказывает антикоагулянтное действие за счет связывания антитромбина (АТ) III и потенцирования образования комплекса АТ III с активными сериновыми протеазами каскада свертывания крови (тромбин, FXa, F1Xa, FX1a, FXIIa). Такое комплексообразование приводит к необратимой инактивации факторов свертывания крови. Связываясь с АТ III, он усиливает ингибиторную способность последнего примерно в 1000 раз. Гепарин активирует тромбоциты и взаимодействует с макрофагами, эндотелиальными и жировыми клетками, активирует липазы и систему комплемента, предотвращает образование и рост тромбов.

Гепарин не всасывается в желудочно-кишечном тракте, поэтому его вводят внутривенно или подкожно. При дозе 100 ЕД/кг массы тела биологический период полураспада составляет 1 ч, при более низких дозах его содержание снижается нелинейно. Препарат прочно связывается с эндотелиальными клетками и макрофагами (это обуславливает необходимость болюсного введения), остаточный медленно выводится почками. Кроме того, гепарин способен связываться с белками, которые его нейтрализуют (богатый гистидином гликопротеин (ГП), тромбоцитарный фактор 4, витронектин). Высокое содержание этих белков в крови может вызвать относительную резистентность к гепаринотерапии. Действие гепарина индивидуальное у каждого пациента, поэтому, несмотря на использование стандартных схем лечения, необходим тщательный лабораторный контроль за введением и дозированием препарата.

Основным лабораторным исследованием, позволяющим оценивать дозирование НФГ, является АЧТВ-тест, для которого

характерна прямая зависимость результатов от концентрации (табл. 6.16). Степень увеличения АЧТВ по сравнению с нормальной плазмой обеспечивает терапевтический интервал — эффективное, но безопасное введение гепарина.

Таблица 6.16

Зависимость изменения АЧТВ-теста от активности гепарина в плазме

Показатель	Активность гепарина в плазме, ЕД/мл				
	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
Отношение АЧТВ пациента к АЧТВ контроля, усл. ед.	1,3–1,4	1,7–1,8	2,3–2,4	3,1–3,2	4,1–4,2

Низкие дозы гепарина (менее 20 000 ЕД/сут) используются периодически для профилактики тромбоэмболии. Считается, что такие дозы не требуют постоянного лабораторного мониторинга.

Терапевтические дозы гепарина (400–800 ЕД/кг массы тела в сут) используют при остром тромбозе (тромбоз глубоких вен, легочная эмболия, внутрисердечные тромбы и пр.). Лечение начинают гепариновым болюсом с последующим непрерывным внутривенным введением. Подбор дозы препарата и мониторинг проводится по степени увеличения АЧТВ по сравнению с нормальной плазмой (отношение АЧТВ пациента к АЧТВ контроля). Дозу корректируют каждые 4–6 ч для поддержания АЧТВ на уровне увеличения в 1,5–2,5 раза и выше исходного до тех пор, пока два последующих измерения не будут соответствовать терапевтическому уровню. В дальнейшем определение АЧТВ можно проводить 1 раз в сутки.

В табл. 6.17 представлены варианты использования терапевтических доз НФГ и возможные результаты изменения АЧТВ-теста.

Таблица 6.17

Контроль за лечением нефракционированным гепарином по результатам определения АЧТВ

Доза гепарина	Способ введения	Время забора крови на исследование	Ожидаемые результаты
400–800 ЕД/кг массы тела в сутки	Подкожно (2–4 раза в сутки)	Между двумя инъекциями на пике	АЧТВ увеличено в 2–2,5 раза относительно контроля, концентрация гепарина 0,4–0,6 ЕД/мл
	Внутривенно болюсно	1 ч до следующей инъекции	АЧТВ увеличено в 1,5–2 раза относительно контроля, концентрация гепарина 0,15–0,3 ЕД/мл
	Перфузия	Любое время	АЧТВ увеличено в 2–2,5 раза относительно контроля, концентрация гепарина 0,4–0,6 ЕД/мл

При использовании терапевтических доз гепарина необходимо определить уровень антитромбина III как до начала терапии, так и в ходе ее. Снижение содержания АТ III ведет к неэффективности гепаринотерапии. Признаком снижения концентрации АТ III на фоне введения гепарина является сокращение АЧТВ, которое, несмотря на неизменную дозу гепарина, может снижаться до значений даже менее нормальных.

В ходе использования нефракционированных гепаринов обязательно исследование количества тромбоцитов в силу возможности развития гепарининдуцированной иммунной тромбоцитопении. Снижение количества тромбоцитов на 30–50% считается показанием к прекращению введения гепарина и переходу на другие виды профилактики тромбообразования. Контроль количества тромбоцитов необходимо проводить 1–2 раза в неделю.

Препараты низкомолекулярного (фракционированного) гепарина имеют молекулярный вес от 4 000 до 8 000 Да и называются *гепаринами низкого молекулярного веса* (фраксипарин, эноксипарин, фрагмин и др.). Их действие как антикоагулянтов обусловлено тем, что они катализируют ингибирование фактора Ха антитромбином III, не связываясь с тромбином. Ускорение инактивации фактора Ха не требует образования тройного комплекса и может достигаться только через связывание гепарина с АТ III (в зависимости от препарата соотношение анти-Ха и анти-IIa составляет от 2 : 1 до 4 : 1).

Для контроля за лечением фракционированным гепарином наиболее обоснованным является определение анти-Ха-активности плазмы, что зависит от введенной дозы и массы тела больного, времени, прошедшего с момента введения препарата до получения пробы крови. Эти закономерности позволяют производителям рекомендовать дозирование препаратов низкомолекулярного гепарина в соответствии с массой тела пациентов без осуществления контроля за показателями системы гемостаза.

Мониторинг терапии антикоагулянтами непрямого действия

Антикоагулянты непрямого действия (АНД) блокируют конечный этап синтеза (У-карбоксилирования) в клетках печени витамин К-зависимых факторов свертывания крови (VII, X, IX и II) и частично протеины С и S. Эти препараты действуют как конкурентные ингибиторы витамин К-редуктазы и витамин К-эпоксид редуктазы, ограничивая включение активной формы витамина К в биосинтез факторов свертывания. Под влиянием АНД образуются неактивные белковые молекулы факторов VII, X, IX и II, не участвующие в процессе свертывания крови.

Скорость снижения активности всех четырех факторов свертывания под влиянием АНД неодинакова. Первым снижается фактор VII, его полужизнь в плазме равна 2–4 ч, затем факторы IX и X, период полужизни которых составляет около 48 ч, и последним протромбин (фактор II) — через 4 сут после начала приема препарата. Снижение активности системы протеина С совпадает по времени с таковым фактора VII с последующей стабилизацией активности этого антикоагулянта. Наиболее чувствительным лабораторным показателем, отражающим влияние АНД на систему гемостаза, является протромбиновый тест. Современный подход к лабораторному мониторингу приема АНД, предложенный ВОЗ в 1983 г., основан на представлении результатов протромбинового теста (ПТ) в виде МНО.

До начала использования препаратов рекомендуется выполнить определение факторов риска, влияющих на антикоагулянтный эффект АНД. В комплекс лабораторных исследований включают:

- общий анализ крови и определение количества тромбоцитов;
- общий анализ мочи;
- исследование системы гемостаза;
- биохимическое исследование функционального состояния печени и почек (содержание билирубина, креатинина, активность трансаминаз, γ -глутамилтранспептидазы).

Подбор доз АНД и необходимая периодичность контроля за показаниями протромбинового теста осуществляется по схеме.

1. Выполнение ПТ желательно проводить в венозной крови с соблюдением всех правил преаналитического этапа. Использование капиллярной крови для исследования не рекомендуется, особенно в период подбора дозы АНД.

2. С учетом того, что максимальный антикоагулянтный эффект препаратов развивается к 3–5-м сут от начала приема, проведение лабораторного контроля будет обоснованным в указанные сроки.

3. Во время подбора дозы препарата МНО определятся 1 раз в 2–3 дня, пока не будет достигнута терапевтическая область международного нормализованного отношения в соответствии с клинической ситуацией и два следующих друг за другом результата не будут одинаковыми (с учетом погрешности выполнения теста допустимое отклонение составляет $\pm 10\%$).

4. После стабилизации МНО на необходимом уровне частоту выполнения ПТ уменьшают до 2 раз в неделю, затем — до 1 раза в неделю и реже — до 1 раза в 2–3 нед или в 1 мес.

5. Внеочередное определение МНО выполняется в связи с изменением схемы антикоагулянтной терапии, появлением кровоточивости, при добавлении в лекарственную терапию других препаратов (табл. 6.18).

Т а б л и ц а 6.18

Лекарственные препараты, влияющие на уровень международного нормализованного отношения

Потенцирование действия варфарина	Ингибирование действия варфарина
Препараты, снижающие связывание альбумином: фенилбутазол, статины, сульфаниламиды, клофибрат	Препараты, снижающие действие варфарина: барбитураты, рифампицин, пенициллин, карбамазепин, алкоголь
Препараты, взаимодействующие с витамином К: цефалоспорины, салицилаты в высокой дозе	Повышенный синтез факторов свертывания крови: пероральные контрацептивы
Препараты, усиливающие антикоагулянтное действие: эритромицин, анаболические стероиды, клофибрат	
Препараты, ингибирующие метаболический клиренс: дисульфирам, дефинилбутазон, амнодарон, аллопуринол, трициклические антидепрессанты, противогрибковые препараты	

6. Лабораторный контроль терапии является основой предотвращения геморрагических осложнений. Риск геморрагии возрастает по мере увеличения МНО:

— при уровне 2,5–3,0 усл. ед. обычно минимален (при превышении этих показателей доза варфарина снижается, а контроль за уровнем МНО учащается);

— при повышении МНО до 4,0–5,0 усл. ед. и в случае отсутствия каких-либо геморрагических проявлений делают перерыв в приеме варфарина под контролем ПТ на 1–2 дня до возврата МНО к требуемому уровню;

— при уровне МНО более 5,0 усл. ед. наряду с временной отменой варфарина назначают препарат витамина К по 1–2 мг/сут до снижения МНО к необходимому терапевтическому уровню (однократный прием внутрь 1,0 мг витамина К);

— при значениях МНО, равных 5–9 усл. ед. и более, прием препарата отменяется, вводится внутривенно или внутрь витамин К, выполняется трансфузия свежезамороженной плазмы в соответствии с клинической ситуацией.

7. Необходимо учитывать влияние на показатели МНО определенного режима питания (особенно в амбулаторных условиях). Желательно ограничить или исключить из рациона продукты с высоким содержанием витамина К: зеленый чай, салат, говяжью печень, кофе, сыр, сливочное масло, яйца.

Лабораторный контроль за применением антиагрегантных препаратов

Антиагрегантные препараты относятся к числу наиболее широко применяемых в клинической практике лекарственных средств. Показаниями для их назначения являются тромбофилические состояния, сердечно-сосудистые заболевания, воспалительные процессы различной природы (табл. 6.19, рис. 6.5).

Т а б л и ц а 6.19

Основные группы антиагрегантных препаратов

Препарат	Основной механизм действия
Аспирин	Неселективный ингибитор циклооксигеназы
Индометацин, напроксен	Селективные ингибиторы тромбоксансинтетазы
Пирацетам, сулоктон	Ингибиторы высвобождения тромбоцитарных компонентов

Окончание таблицы 6.19

Препарат	Основной механизм действия
Тиклопидин, клопидогрель	Блокаторы АДФ-рецепторов
Дипиридамол, трентал	Ингибиторы фосфодиэстеразы (цАМФ-модуляторы)
Абциксимаб, ксемилофибан	Блокаторы гликопротеиновых рецепторов тромбоцитов

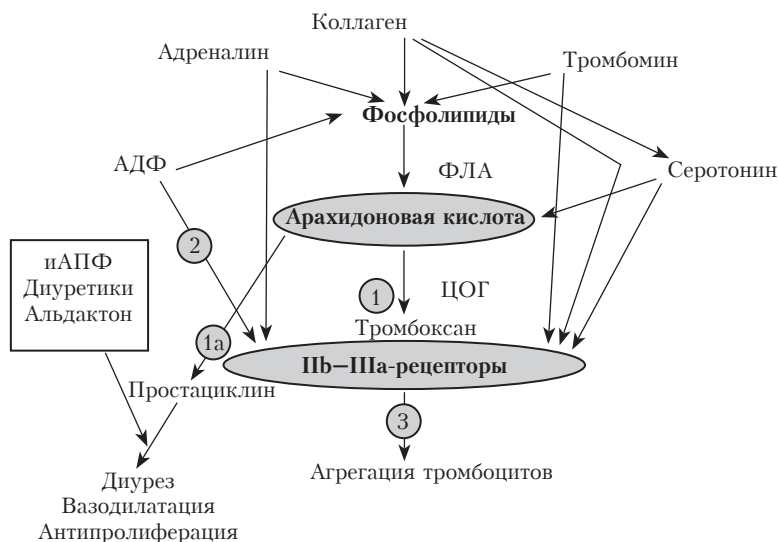


Рис. 6.5. Механизм действия дезагрегационных препаратов (по данным А.П. Момота, 2000): ФЛА — фосфолипаза А; ЦОГ-1 — циклооксигеназа-1; 1 и 1а — точки приложения действия аспирина; 2 — место действия тиклопидина и клопидогреля; 3 — место действия блокаторов GP IIb—IIIa рецепторов тромбоцитов, АДФ — аденозиндифосфат

Аспирин является неселективным ингибитором циклооксигеназы-1. В результате необратимого ингибирования данного фермента уменьшается образование из арахидоновой кислоты циклических эндоперекисей, которые служат предшественниками синтеза тромбоксана А — одного из основных индукторов агрегации и вазоконстрикции, и блокируется реакция освобождения тромбоцитов, индуцированная АДФ и норадреналином. Так как циклооксигеназа-1 находится не только в тромбоцитах, но и в

эндотелиальных клетках, то аспирин тормозит синтез простаглицлина — вещества с прямо противоположными свойствами. Для подавления активности циклооксигеназы в тромбоцитах требуются меньшие дозы препарата, чем для торможения ее активности в эндотелиальных клетках (менее 100 мг/сут). Указанный факт позволяет снизить содержание в крови основного метаболита тромбосана А — тромбосана В₂, и при этом мало изменяется продукция основного метаболита простаглицлина — простаглицлина I₂. Необратимое ингибирование циклооксигеназы и отсутствие возможности ее ресинтеза приводят к сохранению блокады образования тромбосана А₂ под действием аспирина на протяжении всей жизни тромбоцитов (7–10 сут), в то время как влияние на синтез простаглицлина менее продолжительно и зависит от частоты приема препарата. Аспирин также блокирует реакцию освобождения тромбоцитов, в результате которой выделяется большое количество субстанций, способных вызывать агрегацию тромбоцитов (АДФ, серотонин, фактор активации тромбоцитов).

Тиенопиридины — тиклопидин и клопидогрель (плавикс) — действуют на путь активации тромбоцита, на который аспирин влияет слабо — ответ на стимуляцию аденозиндифосфатом (см. рис. 6.4). Блокируя рецепторы к АДФ, препараты данной группы предупреждают возникновение внутриклеточных сигналов, ведущих к активированию гликопротеинов тромбоцитов (GP IIb—IIIa рецепторов). Тиенопиридины препятствуют агрегации, вызываемой другими агонистами, такими как фактор, активирующий тромбоциты, коллаген, низкие концентрации тромбина. Они не изменяют обмен арахидоновой кислоты и, соответственно, не могут нарушить образование простаглицлина в сосудистой стенке. Кроме того, предупреждая эти сигналы, тиенопиридины тормозят и экспрессию адгезивных молекул на поверхности тромбоцита. Действие препаратов на рецептор необратимо, и вызванное этими средствами подавление активности тромбоцита сохраняется в течение оставшейся его жизни. Обусловленное клопидогрелем торможение АДФ индуцированной агрегации достигает 40–60% и стабилизируется на этом уровне на 5–7-е сут его применения в стандартной дозе (75 мг/сут). В те же сроки в 1,5–2 раза по сравнению с исходным увеличива-

ется время кровотечения. Восстановление функции тромбоцитов после прекращения приема клопидогреля происходит также довольно медленно (примерно за 5 сут), так как ее частичное подавление сохраняется в течение оставшейся жизни пластинок, находившихся в кровотоке во время применения препарата.

Ингибиторы GP IIb-IIIa рецепторов тромбоцитов блокируют связывание их с широким спектром лигандов, включая фибриноген, фибронектин, витронектин, фактор Виллебранда, обуславливающих агрегацию тромбоцитов. Препараты используются главным образом в кардиологии при чрескожной ангиопластике и нестабильной стенокардии.

Среди критериев назначения и оценки действия препаратов лабораторные исследования в динамике лечения не являются определяющими. Как правило, назначение антиагрегантов проводится по принятым схемам и действие их оценивается по клиническим проявлениям или функциональным исследованиям (ЭКГ, состояние кровообращения в конечностях, УЗИ). Однако лабораторный контроль за действием антиагрегантных препаратов имеет большое клиническое значение для выявления пациентов, резистентных к действию аспирина, при подборе комплексной терапии, при разработке новых препаратов. Влияние препаратов на уровень функциональной активности тромбоцитов можно оценить, используя методы определения их морфофункционального состояния и индуцированной агрегации тромбоцитов на основе турбидиметрической методики Борна с графической регистрацией процесса на агрегометре.

Оценка внутрисосудистой активации методом морфофункционального анализа состояния тромбоцитов основана на изучении при фазово-контрастном микроскопировании тромбоцитов венозной крови, фиксированных глютаральдегидом, которые сохраняют прижизненную морфологию. По морфологическим свойствам тромбоцитов оценивается сумма их активных форм, количество тромбоцитов, вовлеченных в малые и большие агрегаты (табл. 6.20).

Степень агрегации и скорость агрегации тромбоцитов изменяются в динамике лечения и позволяют проследить у пациентов эффективность приема или достаточность назначаемых доз препаратов (табл. 6.21).

Таким образом, лабораторное исследование функциональной активности тромбоцитов в ходе антиагрегантной терапии может служить инструментом объективного контроля изменений со стороны сосудисто-тромбоцитарного гемостаза.

Т а б л и ц а 6.20

Показатели внутрисосудистой активации тромбоцитов больного Н. до начала терапии и через 14 сут приема аспирина (по данным А.С. Шитиковой, 1991)

Показатель активации	Срок исследования	
	До лечения	Через 14 сут
Сумма активных форм тромбоцитов, %	47,5	33,0
Число тромбоцитов, вовлеченных в агрегаты, %	39,0	28,4

Т а б л и ц а 6.21

Изменение агрегационной активности тромбоцитов (индуктор — АДФ $2,5 \cdot 10^{-6}$ ммоль/л) у больного С. в ходе терапии плавиксом

Показатель	Срок исследования		
	До приема препарата	5 сут	10 сут
Доза плавикса, мг	—	75	37
Степень агрегации тромбоцитов, %	75,2	Отсутствие	31,2
Скорость агрегации тромбоцитов, %/мин	42,2	Не определяется	22,0
Заключение	Увеличение агрегационной активности тромбоцитов	Агрегация тромбоцитов отсутствует	Агрегация тромбоцитов снижена в 2 раза по сравнению с показателями до лечения

Тромболитическая терапия

Эффект основных тромболитических препаратов (стрептокиназа, актилизе) основан на способности генерировать образование плазмينا из пламиногена в системе кровообращения или в тромбе. При этом ингибиторы плазмينا потребляются быстрее, чем он сам. Возникает литическое состояние, в ходе которого растворяется как фибрин, так и фибриноген и факторы свертывания. Общепринятой схемы лабораторного контроля за тромболитической терапией к настоящему времени не существует. Однако необходимо учитывать возможность развития геморрагических осложнений в ходе тромболитической терапии и уровень активации фибринолиза. Для этой цели наиболее информативными представляются лабораторные исследования, приведенные в табл. 6.22.

Лабораторные исследования при тромболитической терапии

Лабораторные исследования	Показатели активации фибринолиза
Определение плазминогена	Не менее 65%
Определение тромбинового времени	Увеличение не более чем в 1,5–2 раза
Концентрация фибриногена в плазме	Не менее 1,0 г/л
Определение D-димера	Более 500 нг/мл

Контрольные вопросы и задания

1. Перечислите основные этапы диагностики нарушений гемостаза.
2. Каковы основные условия, обеспечивающие точность и информативность лабораторного исследования системы гемостаза?
3. Оцените роль сосудисто-тромбоцитарного гемостаза. Перечислите методы лабораторной оценки.
4. Что входит в обязательный объем лабораторных исследований при первичном обследовании больных с геморрагическими проявлениями?
5. Какие лабораторные исследования являются основными в алгоритме диагностики нарушений сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза?
7. Какие клинические состояния могут быть причиной изменений в тесте АЧТВ?
8. Какие клинические состояния могут быть причиной изменений в протромбиновом тесте?
9. При дефиците какого фактора изменяются результаты всех базисных тестов (АЧТВ, ПВ, ТВ)?
10. Каков основной принцип дифференциальной лабораторной диагностики наиболее часто встречающихся коагулопатий?
11. На чем базируется лабораторная диагностика ДВС-синдрома?
12. Перечислите лабораторные подходы для диагностики тромбофилических состояний, связанных с дефицитом или аномалиями первичных физиологических антикоагулянтов.
13. Какие лабораторные исследования могут быть использованы в качестве маркеров активации системы гемостаза?
14. Что входит в обязательный объем лабораторных исследований при предоперационном скрининге нарушений в системе гемостаза для оценки риска кровотечения?

15. Что входит в обязательный объем лабораторных исследований при предоперационном скрининге с целью определения риска тромбоза?

16. В чем проявляется кровоточивость при дефекте плазменного звена гемостаза?

17. Каковы возможности лабораторной диагностики антифосфолипидного синдрома?

18. На чем основан лабораторный контроль действия и дозировки антикоагулянтов непрямого действия?

19. Каковы принципы лабораторного мониторингирования действия и дозировки антикоагулянтов прямого действия?

20. Каковы возможности лабораторных методов исследования в контроле за дезагрегационной терапией?

Тесты для контроля знаний

1. Протромбиназобразование следует контролировать исследованием:

- а) агрегации тромбоцитов;
- б) содержания фибриногена;
- в) определением АЧТВ;
- г) определением протромбинового времени;
- д) исследованием времени кровотечения.

2. Определение тромбинового времени используется:

- а) для наблюдения за проведением гепаринотерапии;
- б) контроля за лечением непрямыми антикоагулянтами;
- в) определения фибринообразования;
- г) диагностики дисфибриногенемии.

3. Определение антитромбина III в плазме используется:

а) для диагностики коагулопатии потребления при ДВС-синдроме;

б) выявления антикоагулянтного эффекта гепарина;

в) выявления наследственной тромбофилии;

г) диагностики гиперкоагуляции при приеме оральных контрацептивов.

4. К патологическому состоянию, протекающему преимущественно с гипокоагуляцией, относится:

- а) атеросклероз;

- б) болезнь Виллебранда;
 - в) облитерирующий эндартериит;
 - г) злокачественные новообразования;
 - д) тромбофлебит.
5. Для предтромботического состояния характерно:
- а) повышение фибринолитической активности;
 - б) гипокоагуляция;
 - в) гипофибриногенемия;
 - г) повышение агрегации и адгезии тромбоцитов;
 - д) тромбоцитопатия.
6. Для антитромбина III не характерно следующее:
- а) плазменный белок, ингибитор сериновых протеаз;
 - б) антикоагулянт, ингибирующий факторы Va и VIIa;
 - в) снижение уровня в плазме на 30–40% опасно риском тромбоэмболии;
 - г) причиной снижения являются потребление АТ III и болезни печени;
 - д) неактивные комплексы, формируемые АТ III, с ферментами не диссоциируют, удаляются ретикулоэндотелиальной системой.
7. Определение продуктов деградации фибрина в плазме показано:
- а) при контроле за лечением стрептокиназой;
 - б) мониторинге использования активаторов пламиногена при лечении тромбоэмболии;
 - в) диагностике ДВС-синдрома.
8. Активность фибринолитической системы следует контролировать исследованием:
- а) активности антитромбина III;
 - б) тромбинового времени;
 - в) протромбинового времени;
 - г) лизиса эуглобулинов;
 - д) агрегации тромбоцитов.
9. Проведение гепаринотерапии можно контролировать исследованием:
- а) АЧТВ;
 - б) лизиса эуглобулинов;
 - в) ретракции кровяного сгустка;

г) концентрации фибриногена;

д) агрегации тромбоцитов.

10. Антикоагулянты непрямого действия можно контролировать при определении:

а) времени свертывания;

б) тромбинового времени;

в) протромбинового времени;

г) продуктов деградации фибрина;

д) антитромбина III.

11. Различная чувствительность больных к антикоагулянтному действию гепарина обусловлена:

а) содержанием в крови больного факторов протромбинового комплекса;

б) количеством тромбоцитов;

в) уровнем антитромбина III;

г) содержанием плазминогена.

12. При острой форме ДВС-синдрома выявляются следующие изменения системы гемостаза:

а) снижается содержание фибриногена;

б) повышается содержание фибриногена;

в) сокращается тромбиновое время;

г) продукты деградации фибрина не обнаруживаются;

д) повышается количество тромбоцитов.

13. Для диагностики хронической формы ДВС-синдрома наиболее информативным является определение:

а) содержания фибриногена;

б) тромбинового времени;

в) протромбинового времени;

г) продуктов деградации фибрина;

д) времени лизиса эуглобулинового сгустка.

14. Для выявления тромбоцитопатии необходимо исследовать:

а) агрегационную функцию тромбоцитов;

б) адгезивную функцию тромбоцитов;

в) активность фактора 3 тромбоцитов;

г) время кровотечения.

15. Коагулопатия потребления развивается:

а) при гемофилии;

- б) ДВС-синдроме;
 - в) болезни Виллебранда;
 - г) тромбастении Гланцмана;
 - д) болезни Хагемана.
16. Для гемофилии характерно:
- а) выраженное увеличение АЧТВ;
 - б) укорочение АЧТВ;
 - в) увеличение протромбинового времени;
 - г) снижение содержания фибриногена.
17. Увеличение протромбинового времени не наблюдается:
- а) при авитаминозе К;
 - б) паренхиматозном гепатите;
 - в) лечении непрямыми антикоагулянтами;
 - г) гемофилии А;
 - д) гипофибриногемиях.
18. Диагностическое значение определения протеина С:
- а) выявление риска развития тромбоэмболии;
 - б) использование в мониторинге дозы таблетированных антикоагулянтов;
 - в) оценка степени дисфункции печени.
19. Протромбиновое время не увеличивается в следующих случаях:
- а) врожденный дефицит факторов II, V, VII, X;
 - б) хронические болезни паренхимы печени;
 - в) дефицит витамина К;
 - г) тромбоз, состояние гиперкоагуляции;
 - д) гипофибриногемия.
20. Увеличение времени кровотечения характерно:
- а) для тромбоцитопении различного генеза;
 - б) тромбоцитопатии;
 - в) ДВС-синдрома;
 - г) лечения дезагрегантами;
 - д) лечения гепарином.
21. У больного с нарушением сосудисто-тромбоцитарного гемостаза имеется дефицит антигена фактора VIII и снижена агрегационная активность тромбоцитов при активации ристомичином. Пациенту при дополнительном обследовании может быть поставлен диагноз:

- а) гемофилия А;
 б) болезнь Виллебранда;
 в) гемофилия В;
 г) хронический рецидивирующий ДВС-синдром в фазе гипокоагуляции.

Ответы к тестовым заданиям

1 — в, г	8 — г	15 — б
2 — а, в, г	9 — а	16 — а
3 — а, б, в, г	10 — в	17 — а, б, в
4 — б	11 — в	18 — а, б, в
5 — г	12 — а	19 — а, б, в
6 — а, в, г, д	13 — г	20 — б, г
7 — а, б, в	14 — а, б, в, г	21 — б

Ситуационные задачи

Задача 1. Дайте характеристику изменений показателей коагулограммы при различных нарушениях системы гемостаза.

Тест коагулограммы	Нормаль- ные значения	Варианты коагулограмм					
		1	2	3	4	5	6
Длительность кровотечения по Дюку, мин	2–4	3,5	5,0	4,5	3,0	8,0	4,0
Число тромбоцитов, $\cdot 10^9/\text{л}$	180–320	300	250	170	310	100	230
Гематокрит, %	35–44	42	36	32	42	26	38
АВР (каолиновое время), с	65–95	60	164	100	126	184	112
АЧТВ, с	30–45	28	76	54	58	82	68
ПТ, %	70–130	101	68	54	64	50	—
МНО	0,85–1,05	—	—	—	—	—	6,0
Фибриноген, г/л	2–4	6	3,5	1,8	3,8	0,9	3,9
Тромбиновое время, с	14–20	15	20	19	32	48	21
Антитромбин III, %	75–125	76	103	86	128	60	98
Плазминоген, %	75–145	70	100	115	110	50	75
Лизис эуглобулиновой фракции, ч	3–4	>4	3,2	3,0	3,5	1,5	—
Этаноловый тест	—	+	—	—	—	+++	+
Ортофенантролиновый тест, мг/100 мл	3–5	8,0	4,0	3,0	5,0	12,0	7,5
Протейн С, %	70–140	88	112	70	96	55	58

Задача 2. Больная Н., 60 лет. Выполнена операция эндопротезирования тазобедренного сустава. Послеоперационный период протекал с инфекционными осложнениями. На 10-й день после операции внезапно возникла резкая одышка. Во время физикального обследования отмечен отек левой голени, болезненный при прикосновении. В результате клинического и инструментального обследования установлен диагноз тромбоз глубоких вен левой голени. В течение нескольких дней проводились капельные внутривенные вливания гепарина в дозе 30 000 ЕД/сут, затем пациентке был назначен варфарин в дозе 5 мг в день. После улучшения состояния пациентка выписана домой. Рекомендации: ежедневный прием варфарина и лабораторный мониторинг 1 раз в 3 нед.

Какие лабораторные исследования необходимо проводить пациентке? С какой целью должен проводиться лабораторный контроль? Как долго необходимо проведение лабораторных исследований у пациентки?

Задача 3. Больная Т., 35 лет, перенесла острый инфаркт миокарда. Через 1 год — повторный инфаркт во время процедуры ангиопластики со стентированием в связи с прогрессированием нестабильной стенокардии. Еще через год возобновились приступы стенокардии при минимальной физической нагрузке.

Семейный анамнез: отец перенес острое нарушение мозгового кровообращения в 48 лет, мать умерла от острого инфаркта миокарда в 49 лет. Сын пациентки в возрасте 8 мес перенес ишемический инсульт в бассейне левой среднемозговой артерии. Больная получает антитромботическую терапию (синкумар, тромбо-АСС). Результаты исследования системы гемостаза представлены в таблице.

Показатель	Норма	Пациентка	Сын
АПТВ, с	25–35	29	27
Протромбиновый тест по Квику, %	86–114	79 (МНО – 1,2)	105
Фибриноген, г/л	2–4	2	2
Тромбиновое время, с	9–12	11,8	11,2
Активность фактора VIII, %	58–180	92	129
Активность фактора Виллебранда, %	54–153	140	74
Активность антитромбина III, %	80–120	92	129
Протеин С, %	75–145	60	88
Волчаночный антикоагулянт		Не выявлен	Не выявлен

Какие нарушения системы гемостаза выявлены у пациентки? Можно ли в данной ситуации говорить о наследственной форме тромбофилии? Какие специфические исследования необходимы для диагностики причины тромбофилического состояния?

Литература

1. Баркаган З.С., Цывкина Л.П., Момот А.П., Шилова А.Н. Ошибки, просчеты и пути совершенствования клинического применения низкомолекулярных гепаринов // Клинич. фармакология и терапия. 2002. № 11. С. 78–82.
2. Баркаган З.С., Момот А.П. Основы диагностики нарушений системы гемостаза. М.: Ньюдиамед-АО, 2001. 224 с.
3. Вавилова Т.В. Система гемостаза у больных с механическими искусственными клапанами сердца / Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Санкт-Петербург, 2004. 38 с.
4. Климович Л.Г., Иващенко А.А., Рудько И.А. Высвобождение АТВ из плотных гранул и агрегация тромбоцитов у больных после шунтирования. Контроль дезагрегантной терапии // Тромбоз, гемостаз и реология. 2004. № 2. С. 37–45.
5. Клиническая лабораторная аналитика / Под ред. В.В. Меньшикова. М.: ЛабПресс, 2000. 384 с.
6. Козловская Н.Л. Тромбофилические состояния // Клинич. фармакология и терапия. 2003. № 12. С. 74–79.
7. Лабораторный контроль антикоагулянтной терапии у хирургических больных. Методические рекомендации МЗ РФ / Под ред. В.Л. Эммануэля, В.В. Гриценко. Санкт-Петербург, 2002. 56 с.
8. Медицинская лабораторная диагностика (программы и алгоритмы). Справочник / Под ред. А.И. Карпищенко. СПб.: Интермедика, 2001. 544 с.
9. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клиничко-лабораторной диагностики. СПб.: ФормаТ, 2006. 208 с.
10. Морозов Ю.А. Наследственный и приобретенный дефицит антитромбина III. Клиника, диагностика и лечение с использованием концентрата антитромбина III // Тромбоз, гемостаз и реология. 2004. № 3. С. 23–36.

11. *Насонов Е.Л.* Антифосфолипидный синдром. М.: Литтерра, 2004. 440 с.
12. *Окороков А.Н.* Диагностика болезней внутренних органов. М.: Медицинская литература, 2002. 492 с.
13. *Федоткина Ю.А., Добровольский А.Б., Кропачева Е.С. и др.* Диагностическое и прогностическое значение D-димера в клинике внутренних болезней // Терапевтич. арх. 2003. № 12. С. 1–5.
14. *Шиффман Ф.Дж.* Патология физиологии крови. М. – СПб.: БИНОМ; «Невский диалект», 2001. 448 с.

Глава 7

ЛАБОРАТОРНЫЙ АЛГОРИТМ В ДИАГНОСТИКЕ ПАТОЛОГИИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

В последние годы наблюдается рост заболеваний щитовидной железы (ЩЖ). Это может быть связано с недостаточностью йода в окружающей среде, неправильным питанием, ухудшением экологической ситуации. В настоящее время получили распространение высокоинформативные лабораторные методы исследования функции ЩЖ. В клинику внедрены методы радиоиммунного, иммуноферментного, электрохемилюминесцентного анализов, которые внесли значительный вклад в формирование диагностических алгоритмов и контроля за лечением больных с патологией ЩЖ.

Строение и функции щитовидной железы

Щитовидная железа — это орган эндокринной системы, хорошо кровоснабжаемый, состоящий из двух долей, соединенных перешейком. Масса железы у взрослого человека составляет 15—20 г и варьирует в зависимости от региона проживания. Структурной и функциональной единицей ЩЖ является фолликул. Каждый фолликул представляет собой слой кубовидных клеток (тиреоцитов), окружающих полость, заполненную коллоидом. Между фолликулами располагаются кровеносные капилляры. Ткань ЩЖ содержит С-клетки, продуцирующие пептидный гормон кальцитонин.

ЩЖ секретирует в кровь три гормона — тироксин (T_4), трийодтиронин (T_3) и кальцитонин. Кальцитонин функционально не связан с другими гормонами и участвует в регуляции гомеостаза кальция. Ежедневно синтезируется 90 мкг T_4 и 10 мкг T_3 . Тироксин — биологически малоактивный предшественник

трийодтиронина. В организме человека этот гормон по мере необходимости метаболизируется в трийодтиронин и обеспечивает поддержание нормального состояния обмена веществ.

Более 99% циркулирующих гормонов в крови связаны с белками плазмы (причем 80% из них с тироксинсвязывающим глобулином) и биологически не активны.

Физиологические эффекты тиреоидных гормонов в периферических тканях осуществляются в основном за счет более активного трийодтиронина.

Щитовидная железа активно влияет на обмен веществ в организме человека. Ее гормоны стимулируют рост, психическое развитие, деятельность сердечно-сосудистой и пищеварительной систем, участвует в регуляции репродуктивной функции.

Регуляция функции щитовидной железы

Синтез и высвобождение гормонов ЩЖ регулируется тиреотропным гормоном (ТТГ) гипофиза, выработка которого находится под контролем ТТГ-рилизинг-гормона (ТТГ-РГ), вырабатываемого гипоталамусом. ТТГ-РГ эпизодически секретируется как днем, так и ночью, но его пик приходится на часы, предшествующие сну (рис. 7.1). В течение ночи уровень гормона постепенно снижается. ТТГ оказывает стимулирующий эффект на рост и пролиферацию ткани ЩЖ, имеет общую с фолликуло-стимулирующим, лютеинизирующим гормонами и пролактином α -цепь, чем в немалой степени объясняется взаимное влияние половых желез и ЩЖ. Уровень T_3 и T_4 регулируется ТТГ по принципу механизма обратной связи.

Между концентрациями свободного T_4 и ТТГ в крови существует обратная логарифмическая зависимость. Так, двукратному повышению уровня свободного T_4 соответствует 100-кратное уменьшение концентрации ТТГ. Схема регуляции гормонов щитовидной железы представлена на рис. 7.1.

Синтез и функции тиреоидных гормонов

Процесс синтеза и высвобождения тиреоидных гормонов состоит из нескольких этапов:

- поглощение йода щитовидной железой;

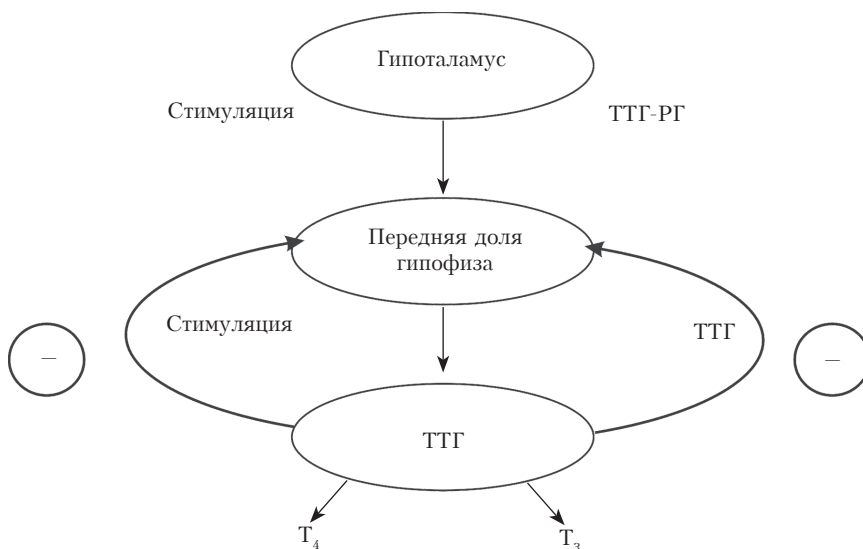


Рис. 7.1. Схема регуляции гормонов щитовидной железы

- органификация йода;
- синтез гормонов;
- хранение и высвобождение гормонов.

Йод поступает в организм с пищей, всасывается в тонкой кишке в кровь, с током крови поступает в ЩЖ. Щитовидная железа способна извлекать 20–40% содержащегося в крови йодида. Это возможно благодаря мощному кровотоку через ЩЖ и наличию йодидной помпы. Примерно 90% йода, не поглощенного железой, выделяется с мочой. Работу йодидной помпы активирует ТТГ.

Йодид, попавший внутрь тиреоцита, окисляется и присоединяется к остаткам тирозина в молекуле тиреоглобулина (ТГ).

В процессе внутриклеточного протеолиза ТГ образуется тироксин, который поступает в кровь. За сутки ЩЖ продуцирует 80–100 мкг тироксина. В периферических тканях T_4 монодейодируется до трийодтиронина. Поступившие в кровь T_3 и T_4 связываются с транспортными белками: тироксинсвязывающим глобулином (ТСГ), тироксинсвязывающим преальбумином (ТСПА), альбумином.

Но всю метаболическую и биологическую активность обеспечивает свободная фракция гормонов, составляющая 0,03–0,04% от общего тироксина и 0,3–0,4% от общего трийодтиронина в крови. В клинике нередко случаются ситуации, когда уровень общих T_3 и T_4 у больных повышен, а клинические данные отсутствуют. В табл. 7.1 приведены факторы, влияющие на связывание T_3 и T_4 с ТСГ.

Функции гормонов щитовидной железы T_3 и T_4 :

- повышение потребления кислорода тканями;
- стимулирование синтеза белков;
- воздействие на рост и дифференцировку клеток;
- влияние на метаболизм углеводов, липидов, витаминов;
- влияние на процессы в ЦНС.

Таблица 7.1

Факторы, влияющие на связывание T_3 и T_4 тироксинсвязывающим глобулином (по данным Е.П. Гитель, Г.А. Мельниченко, 1999)

Повышение связывания	Снижение связывания
Беременность.	Возраст старше 60 лет.
Период новорожденности.	Гиперандрогения.
Эстрогены и гиперэстрогенные состояния.	Терапия большими дозами глюкокортикоидов.
Оральные контрацептивы.	Акромегалия.
Лекарственные препараты (томоксифен).	Нефротический синдром.
Большие коллагенозы.	Генетические факторы.
Все виды гепатитов.	
ВИЧ-инфекция.	

Функциями ТТГ являются:

- воздействие на транспорт йода в ЩЖ;
- синтез тиреоглобулина;
- синтез тиреоидных гормонов;
- высвобождение T_3 и T_4 из ЩЖ.

Классификация заболеваний щитовидной железы

Единой классификации заболеваний ЩЖ, принятой во всем мире, на сегодняшний день нет. Тем не менее за основу отнесения к той или иной нозологии берутся показатели функциональной активности ЩЖ, ее размеры и морфологическая характеристика.

1. Синдром гипертиреоза (повышенная функция):

— повышенная продукция гормонов ЩЖ (диффузный токсический зоб, аутоиммунный тиреодит, гиперпродукция ТТГ, резистентность тиреотрофов к ТТГ);

— продукция гормона вне ЩЖ (метастазы рака ЩЖ, *struma ovarii*);

— отсутствие гиперпродукции гормонов ЩЖ (передозировка препаратов гормонов ЩЖ, гиперчувствительность тканей к гормонам ЩЖ).

2. Синдром гипотиреоза (сниженная функция):

— первичный гипотиреоз (врожденный, уменьшение количества функционирующей ткани ЩЖ, нарушение синтеза гормонов);

— гипотиреоз центрального генеза (гипофизарный — вторичный, гипоталамический — третичный);

— периферический гипотиреоз (нарушение транспорта, метаболизма и действия тиреоидных гормонов).

3. Заболевания без нарушения функции ЩЖ:

— эутиреоидный зоб;

— тиреоидная неоплазия;

— тиреоидиты.

Наиболее часто встречаются заболевания, связанные с недостатком йода в окружающей среде (диффузный и диффузно-узловой эндемический зоб), аутоиммунная патология ЩЖ (аутоиммунный тиреоидит и диффузный токсический зоб), а также тиреоидные опухоли (доброкачественные и злокачественные). Причины гипо- и гипертиреоза представлены в табл. 7.2.

Таблица 7.2

Причины гипер- и гипотиреоза

Гипертиреоз	Гипотиреоз
Аутоиммунные заболевания: базедова болезнь; тиреоидит Хасимото	Неонатальный гипотиреоз Постнатальный гипотиреоз: первичный; вторичный
Воспалительные заболевания: подострый тиреоидит; тиреоидит после облучения	
Злокачественные опухоли	
Гормональная терапия	

Практического врача на определенном этапе диагностики независимо от морфологического варианта интересует вопрос о функциональном состоянии ЩЖ. И главным способом оценки тиреоидной продукции гормонов на сегодняшний день являются иммуноферментный или электрохемилюминесцентный методы. При этом получаемые сведения о концентрации в сыворотке крови тиреотропного гормона, тироксина и трийодтиронина принимаются во внимание не только на диагностическом этапе при впервые выявленном заболевании, но и в процессе длительного наблюдения на фоне консервативного лечения (для оценки адекватности дозировки фармакологических препаратов), а также при пожизненной диспансеризации лиц с излеченной хирургическим или медикаментозным способом тиреоидной патологией (для ранней диагностики ее возможного рецидива). Более того, методика гормональной оценки функции ЩЖ используется не только для индивидуального обследования при обращении к врачу в связи с определенными жалобами, но и при массовых исследованиях в родовспомогательных учреждениях для диагностики врожденного гипотиреоза на первой неделе жизни или с целью селективного скрининга в определенных угрожаемых группах населения, в популяции лиц старшего возраста с сердечно-сосудистой патологией или дислипидемией для своевременного выявления приобретенного гипотиреоза.

И, наконец, высокую частоту направления пациентов с разнообразными соматическими отклонениями на анализ содержания в крови гормонов тиреоидного комплекса определяет большое число так называемых клинических масок гипотиреоза и тиреотоксикоза, за которыми может таиться нераспознанная патология тиреоидной системы.

Современные алгоритмы исследования функциональной активности состояния ЩЖ требуют в первую очередь проведения двух анализов — определения ТТГ высокочувствительным методом и свободного T_4 . Исследование свободных фракций T_4 и T_3 считается самым надежным и точным маркером функции ЩЖ. Их уровень не зависит от содержания белков; большинство препаратов, влияющих на уровень общего T_3 и T_4 , не искажают результатов анализа свободного T_4 и T_3 . Но, учитывая, что

большая часть T_3 образуется из T_4 , а концентрация свободного T_4 превышает на три порядка таковую свободного T_3 , можно утверждать, что основным маркером оценки гормональной активности ЩЖ выступает свободный T_4 . Изучение свободного T_3 не является тестом первого уровня и относится к числу дополнительных исследований. Кроме того, анализ свободного T_3 снижает экономические показатели лаборатории. Без клинических показаний в выполнении данного исследования нет необходимости. В табл. 7.3 и 7.4 показаны примеры интерпретации результатов определения T_3 и T_4 соответственно.

Таблица 7.3

Интерпретация результатов анализа T_3

Уровень T_3 или FT_3	Причины
В норме	Эутиреоз; скрытые функциональные дефекты; гипотиреоз, компенсированный повышенным превращением T_4 в T_3
Повышенный	Гипертиреоз, нарушение связывающей емкости белков (FT_3 в норме), прием лекарств, содержащих трийодтиронин
Пониженный	Гипотиреоз, длительная тиреостатическая терапия, хронические тяжелые заболевания

Таблица 7.4

Интерпретация результатов анализа T_4

Уровень T_4 или FT_4	Причины
В норме	Нормальная функция ЩЖ, эндемический зоб, заместительная терапия, скрытая форма гипертиреоза
Повышенный	Гипертиреоз, базедова болезнь, подавляющая терапия, опухоли гипофиза
Пониженный	Гипотиреоз, тиреостатическая терапия, дефицит йода, вторичный (гипофизарный) гипотиреоз

Как показывает клиническая практика, нередко возникают ситуации, когда клиницисты считают полученный в лаборатории результат ошибочным и направляют пациентов на повторное исследование крови. Но существуют помимо лабораторных ошибок и объективные причины подобных расхождений:

- избыточная терапия тироксином, приводящая к снижению ТТГ при нормальном свободном T_4 ;
- прием трийодтиронина, когда ТТГ снижен при нормальном свободном T_4 ;
- недостаточная терапия гормонами ЩЖ, когда уровень ТТГ повышен при нормальном свободном T_4 ;

— внетиреоидная патология;
 — ТТГ-секретирующие опухоли;
 — тотальная резистентность тканей к гормонам ЩЖ, когда уровни ТТГ и свободного T_4 повышены при клиническом эутиреозе.

Отклонение в выработке ТТГ является наиболее ранним и чувствительным индикатором дисфункции ЩЖ. Клетки гипофиза, секретирующие ТТГ, обладают уникальной повышенной (на 50%) способностью связывать и распознавать концентрацию T_4 в системном кровотоке, нежели другие клетки-эфффекторы.

В связи с этим изменение продукции ТТГ по принципу отрицательной обратной связи (повышение при дефиците тиреоидных гормонов и подавление при их избытке) наступает наиболее рано, до того, как появится характерная клиническая симптоматика гипотиреоза или тиреотоксикоза со стороны кожи, ее придатков и внутренних органов, а нередко и еще раньше — до того, как удастся лабораторно зарегистрировать патологическое изменение (повышение либо снижение в сравнении с нормой) сывороточного уровня самих гормонов ЩЖ (табл. 7.5). На рис. 7.2 представлена схема диагностического алгоритма при подозрении на патологию ЩЖ.

В последние годы сформирована концепция о субклинических стадиях нарушения функции ЩЖ. При этом под *субклиническим гипотиреозом* подразумевают такие состояния при заболеваниях ЩЖ, когда «клиника молчит», уровень T_3 и T_4 в норме (причем не только их общего содержания, но даже и свободных фракций), а концентрация ТТГ превышает верхний нормальный предел.

Т а б л и ц а 7.5

Интерпретация результатов анализа ТТГ

Уровень ТТГ, мМЕ/л	Диагноз
Ниже 0,2	Гипертиреоз при повышенных концентрациях T_4 или T_3
0,2–5,0	Эутиреоз. Функциональные нарушения ЩЖ
5,1–10,0	Гипотиреоз, латентная форма. Опухоли гипофиза, продуцирующие ТТГ
Выше 10,0	Первичный гипотиреоз. Опухоли гипофиза, продуцирующие ТТГ

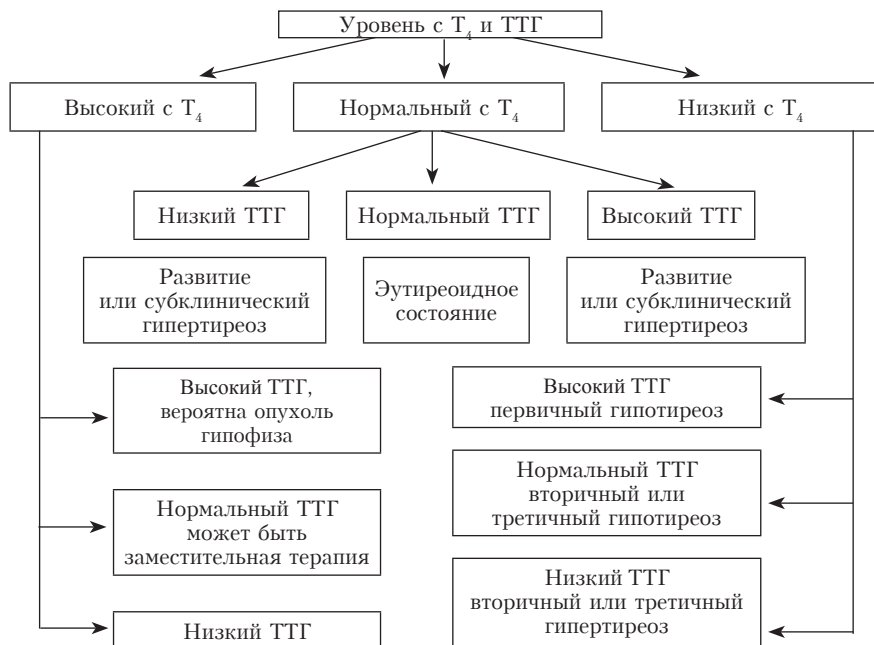


Рис.7.2 Схема диагностического алгоритма

Клинически явный, или манифестный, гипотиреоз устанавливается при наличии соответствующей симптоматики тиреоидной недостаточности, что подтверждается снижением уровня T₄ и (или) T₃ при особенно высоких значениях ТТГ (как правило, более 10 мМЕ/л).

Аналогично оценивается ситуация и при патологической гиперфункции ЩЖ: *субклиническим гипертиреозом* именуются клинически эутиреоидные случаи с нормальными уровнями тиреоидных гормонов, но со значениями ТТГ ниже нижней границы нормы. Клинически очерченная манифестация тиреотоксикоза сопровождается повышенными концентрациями T₃ и (или) T₄ на фоне еще более глубокого подавления гипофизарной продукции ТТГ (нередко до неопределяемых величин).

Исследование гормонов «на всякий случай» рано или поздно ставит врача перед необходимостью оценить ситуацию, которая в литературе носит название «Low T₃ syndrome», или

«синдром низкого T_3 », или «синдром эутиреоидного больного». Это не заболевание ЩЖ, а приспособительная реакция тиреоидной системы на стресс, на иную патологию. Таким образом организм в критическом состоянии пытается сберечь энергию на общем обмене веществ, зависящем от гормонов ЩЖ, и направить эту энергию на выживание.

Этиология синдрома низкого T_3 :

1. Системные нетиреоидные заболевания:

- острые и хронические инфекции;
- злокачественные новообразования;
- болезни печени, почек, сердца;
- коматозные состояния.

2. Калорийно-энергетическая недостаточность:

- голодание;
- психогенная анорексия;
- синдром мальабсорбции;
- ожоги;
- гипертермия;
- послеоперационный период.

При синдроме низкого T_3 клиника гипотиреоза отсутствует, процесс обратимый. Медикаментозная коррекция не показана.

Нередко в практике взаимодействия специалистов лабораторной службы и врачей-клиницистов возникают ситуации, когда клиницисты повторно направляют больного для оценки функции ЩЖ, поскольку результаты ТТГ и свободного T_4 по их мнению, ошибочны, не соответствуют клинической картине (табл. 7.6).

Таблица 7.6

Наиболее частые причины расхождения результатов определения ТТГ и свободного T_4 с клинической картиной

Причина	ТТГ	Свободный T_4
Избыточная терапия гормонами ЩЖ	Снижение	Норма
Недавно проведенная коррекция терапии гормонами ЩЖ	Повышение	Норма
Прием препаратов, содержащих T_3	Снижение	Норма
Недостаточная терапия гормонами ЩЖ	Повышение	Норма
Тотальная резистентность к тиреоидным гормонам	Повышение. Клинический эутиреоз	Повышение
ТТГ-секретирующие опухоли	Повышение. Клинический тиреотоксикоз	Повышение

Факторы, учитываемые при проведении иммунохимических анализов на гормоны:

- необходимо использовать сыворотку или гепаринизированную плазму;
- сыворотка должна быть стабильной в течение нескольких недель при условии хранения при температуре 4–8 °С;
- мутные пробы должны быть отцентрифугированы;
- измерение гормонов происходит в утренние часы;
- в ранние сроки беременности концентрации свободных форм T_4 и T_3 повышаются, а концентрация ТТГ снижается;
- лекарственные препараты (амидарон, салицилаты, карбамазепин) влияют на результаты измерений T_3 и T_4 .

Тиреоглобулин (ТГ) — прогормон, который синтезируется в тиреоцитах, его секреция в кровь контролируется ТТГ. Период полужизни ТГ в крови составляет 3–4 дня. В норме в кровоток поступает лишь небольшая его часть (около 10%). Патологическая утечка ТГ в кровоток наблюдается при стимуляции ЩЖ, при структурных ее поражениях и при дифференцированном раке железы. Нормальные значения ТГ — от 0 до 35–50 мкг/л.

Показаниями к определению ТГ выступают:

- карцинома ЩЖ;
- выявление рецидивов и метастазов карциномы ЩЖ;
- мониторинг лечения больных с карциномой ЩЖ;
- метастазы в легкие и кости неясного происхождения.

В педиатрической эндокринологии сведения об индивидуальных концентрациях ТГ весьма полезны при ведении детей с врожденным гипотиреозом для подбора дозы заместительной терапии и определения прогноза заболевания.

Факторы, влияющие на уровень ТГ:

- наличие карциномы, способной накапливать радиоактивный йод;
- недифференцированный рак ЩЖ (уровень ТГ в крови не повышается);
- проведение пункционной биопсии ЩЖ или иные травматические манипуляции с железой (высокий уровень маркера сохраняется 2–3 нед после проведения манипуляций).

Уровень ТГ коррелирует с размерами зоба, но не позволяет дифференцировать заболевания ЩЖ, в том числе ее доброкачественные и злокачественные опухоли.

Одной из задач лабораторной диагностики наряду с первичной оценкой функции ЩЖ является динамический контроль за лечением.

Для оценки адекватности терапии первичного гипотиреоза рекомендуется исследовать уровень ТТГ. Важно помнить, что уровень ТТГ нормализуется не ранее чем через 2 мес после восполнения дефицита T_4 , и контроль должен осуществляться спустя это время. Более раннее исследование влечет ошибочное заключение о неадекватности терапии. При тиреотоксикозе, напротив, быстрее растормаживается уровень тиреоидных гормонов, чем секреция ТТГ. Поэтому определение концентрации свободного T_3 или T_4 при изолированном T_3 -токсикозе после 3 мес лечения служит более достоверным показателем эутиреоза и может указывать на необходимость дополнительного назначения препаратов T_4 по схеме «блокада + замещение» под контролем дополнительного определения ТТГ. При оценке значений свободного T_4 у больных, находящихся на заместительной терапии препаратами тироксина, следует помнить, что транзиторный подъем показателя на 10–15% наблюдается в течение 3–4 ч после приема последней дозы препарата.

Кальцитонин (КТ) является продуктом секреции С-клеток и не относится к группе тиреоидных гормонов. Нормальное содержание его в крови не превышает 10 пг/мл. Небольшое повышение этой величины может указывать на С-клеточную гиперплазию, выявляемую у части больных с хронической гиперкальциемией, а также хроническим аутоиммунным тиреоидитом. Наиболее часто иммунные реакции (выработка антител) развиваются к тиреоглобулину, тиреоидной пероксидазе (ТПО) и рецептору тиреотропного гормона. В клинике определение антител может оказать важную помощь в постановке диагноза (табл. 7.7, 7.8). В связи с отсутствием абсолютной диагностической роли раздельного определения антител эти маркеры в сыворотке крови рекомендуется исследовать в комплексе с анти-ТГ и анти-ТПО. Тогда надежность лабораторных тестов значительно возрастет.

Классификация аутоиммунных заболеваний ЩЖ

1. Диффузный токсический зоб.
2. Аутоиммунный тиреоидит:
 - а) гипертрофический вариант с зобом:
 - лимфоцитарный тиреоидит;
 - хронический фиброзный тиреоидит (зоб Хасимото);
 - лимфоцитарный тиреоидит детей и подростков;
 - послеродовой тиреоидит;
 - б) атрофический вариант без зоба:
 - идиопатическая микседема;
 - атрофический бессимптомный тиреоидит.

Таблица 7.7

Распространенность анти тиреоидных антител при заболеваниях щитовидной железы

Заболевание	Антитела к ТПО и ТГ, %	Антитела к рецептору ТТГ, %
Зоб Хасимото	99–100	0
Первичная микседема	60–90	10–20
Диффузный токсический зоб	70 – ТПО, 40 – ТГ	70–80
Хаси-токсикоз	100	100
Диффузный или узловой нетоксический зоб	20–25	0
Узловой токсический зоб	20–35	0
Рак ЩЖ	20–35	0
Здоровые лица	Варьирует с возрастом	0

Известно, что даже здоровые люди могут иметь антитела к ТПО. Но субклиническое носительство антител нельзя признать физиологическим состоянием, и для своевременной диагностики развивающегося гипотиреоза желательно наблюдение таких лиц с определением в крови ТТГ не реже 1 раза в год.

Таблица 7.8

Показания к определению анти тиреоидных аутоантител

Вид антител	Абсолютные показания	Относительные показания
Антитела к тиреоглобулину	Мониторинг после оперативного лечения рака ЩЖ	Нет
Антитела к тиреоидной пероксидазе	Диагностика болезни Грейвса, аутоиммунного тиреоидита, прогноз риска гипотиреоза при изолированном повышении уровня ТТГ, прогноз послеродового тиреоидита у женщин из группы высокого риска	Диагностика аутоиммунного тиреоидита при эутиреоидном диффузном или узловом зобе, прогноз гипотиреоза у лиц в группах высокого риска

Самостоятельную группу риска для выполнения селективного иммунологического скрининга составляют беременные женщины. Серопозитивные женщины более предрасположены к развитию послеродовой депрессии и послеродового тиреоидита. Кроме того, с возникающим у таких беременных дефицитом тиреоидных гормонов связывают недавно установленный феномен снижения индекса интеллекта IQ у их потомства.

Показаниями к проведению анализов на определение аутоантител также являются:

- эутиреоидный зоб, любые нарушения функции ЩЖ (гипотиреоз, тиреотоксикоз);
- первая половина беременности, послеродовая депрессия, любые аутоиммунные заболевания других органов;
- гипертиреоз у новорожденных;
- врожденный гипотиреоз;
- аутоиммунный тиреоидит.

В настоящее время в лаборатории могут быть определены только антитела к ТПО, ТГ и рц-ТТГ.

Диагностика йоддефицитных состояний

Одними из наиболее распространенных неинфекционных заболеваний человека являются йоддефицитные состояния (ЙДС). Йод относится к микроэлементам питания: суточная потребность в нем составляет 100–200 мкг. Дефицит йода не имеет подчас выраженных признаков, и поэтому он получил название «скрытый голод».

Наиболее распространенное проявление дефицита йода — эндемический зоб (ЭЗ), который выступает предрасполагающим фактором для развития многих заболеваний щитовидной железы, в том числе узловых новообразований и рака. Дефицит йода увеличивает частоту встречаемости врожденного гипотиреоза, ведет к необратимым нарушениям мозга у плода и новорожденного, приводящим к умственной отсталости (кретинизму, олигофрении). По мнению экспертов ВОЗ, дефицит йода в организме провоцирует развитие умственной отсталости, которое можно предупредить.

Недостаточное поступление йода с пищей вызывает перестройку функции щитовидной железы. В условиях его дефицита снижается синтез гормонов T_4 и T_3 , что по принципу обратной связи приводит к увеличению секреции ТТГ. Под влиянием ТТГ в щитовидной железе происходит ускорение утилизации эндогенного йода, секреция активного T_3 , ускорение конверсии T_4 и T_3 в крови и тканях, увеличение тиреоидной массы. В результате щитовидная железа увеличивается в объеме и формирует зоб, что является компенсаторной реакцией, направленной на сохранение гомеостаза тиреоидных гормонов в организме. Если дефицит йода сохраняется, то компенсаторные механизмы истощаются и активация ТТГ не приводит к увеличению биосинтеза T_4 , формируется гипотиреоз, который сопровождается нарушением умственного и физического развития. По данным ВОЗ, в районах с тяжелой йодной недостаточностью у 1–10% населения встречается кретинизм, у 5–30% — неврологические нарушения и умственная отсталость, у 30–70% — снижение умственных способностей. В табл. 7.9 представлены клинические проявления йоддефицитных состояний.

Таблица 7.9

Спектр проявлений йоддефицитных заболеваний

Период жизни	Потенциальные нарушения
Плод	Самопроизвольные аборты, мертворождение. Врожденные аномалии. Эндемический неврологический кретинизм
Новорожденные	Неонатальный зоб. Гипотиреоз
Дети и подростки	Эндемический зоб. Ювенильный гипотиреоз. Нарушения умственного и физического развития
Взрослые	Зоб и его осложнения. Гипотиреоз. Умственные нарушения. Йодиндуцированный тиреотоксикоз

Для определения исходного уровня йодного дефицита в исследуемом регионе выделяют две группы параметров: клинические (частота зоба в популяции по данным пальпаторного и УЗ-исследования, распространенность эндемического кретинизма) и лабораторные (уровень ТТГ в крови и тиреоглобулина, содержание йода в моче) (табл. 7.10).

Около 90% потребляемого с пищей йода экскретируется с мочой, и поэтому определение его концентрации в моче может служить показателем йоддефицита в регионе. Тем самым устраняется необходимость проведения технически сложных и дорогостоящих исследований концентрации йода в продуктах питания, составляющих рацион современного человека. Вместе с тем концентрация йода у отдельно взятого человека меняется даже в течение суток. Метод определения йода в моче пригоден только для эпидемиологических исследований. Если медиана экскреции микроэлемента с мочой превышает 100 мкг/л, то в данной популяции дефицита йода нет. В настоящее время во многих странах мира осуществляется неонатальный скрининг врожденного гипотиреоза, что упрощает задачу проведения эпидемиологических исследований на выявление ЙДС.

Таблица 7.10

**Эпидемиологические критерии оценки степени тяжести йоддефицитных состояний
(по данным ВОЗ, 1994)**

Критерий	Популяция	Степень тяжести ЙДС		
Частота зоба по данным пальпации, %	Школьники	5,0–19,0	20,0–29,0	>30,0
Частота зоба по данным УЗИ, %	Школьники	5,0–19,0	20,0–29,0	>30,0
Концентрация йода в моче, мкг/л	Школьники	50,0–99,0	20,0–49,0	<20,0
Частота уровня ТТГ в сыворотке крови более 5 МЕ/мл при неонатальном скрининге, %	Новорожденные	3,0–19,9	20,0–39,9	>40,0
Уровень тиреоглобулина, нг/мл	Дети, взрослые	10,0–19,9	20,0–39,9	>40,0

Превышение концентрации ТТГ у новорожденных при неонатальном скрининге является одним из маркеров наличия дефицита йода в регионе. Пороговым для выявления дефицита йода является уровень ТТГ, равный 5 МЕ/мл. В йоддефицитных районах число новорожденных с уровнем ТТГ более 5 МЕ/мл превышает 3%. В районах, свободных от дефицита йода, частота зоба не превышает 5%, экскреция йода с мочой должна быть выше 100 мкг/л и частота уровня ТТГ в крови более 5 МЕ/мл у новорожденных при проведении скрининга неонатального гипотиреоза составляет в норме менее 3%.

Для удовлетворения потребности организма в йоде ВОЗ рекомендует следующие нормы его ежедневного потребления:

- 50 мкг — для детей грудного возраста (первые 12 мес);
- 90 мкг — для детей от 1 года до 6 лет;
- 120 мкг — для детей от 7 до 12 лет;
- 150 мкг — для взрослых (12 лет и старше);
- 200 мкг — для беременных и кормящих женщин.

Для профилактики йодной недостаточности используются методы индивидуальной, групповой и массовой профилактики.

В йоддефицитных районах среди населения повышена распространенность узлового зоба, и в условиях избыточного поступления йода узловой зоб трансформируется в токсический. Таким образом, йодиндуцированный тиреотоксикоз является не столько самостоятельной формой тиреотоксикоза, сколько манифестацией скрытого узлового зоба на фоне повышенного поступления йода. В табл. 7.11 представлены факторы, влияющие на распространенность патологии ЩЖ.

Таблица 7.11

Влияние величины потребления йода на характер патологии ЩЖ

Дефицит йода	Избыток йода
Высокая частота диффузного и узлового зоба	Низкая частота диффузного и узлового зоба
Доля аутоиммунной патологии невелика	Доля аутоиммунной патологии повышена
Частота встречаемости низкодифференцированных форм рака ЩЖ повышена	Частота встречаемости низкодифференцированных форм рака ЩЖ снижена
Высокое накопление радиоактивного йода (60–80%)	Низкое накопление радиоактивного йода (10–30%)

Одним из наиболее часто встречающихся заболеваний ЩЖ у детей является врожденный гипотиреоз (ВГ). Данная патология у девочек встречается в 2 раза чаще, чем у мальчиков. В ее основе лежит полная или частичная недостаточность тиреоидных гормонов, приводящая к задержке развития и дифференцировке внутренних органов и систем организма, в первую очередь центральной нервной системы. Единственным методом профилактики задержки умственного развития при ВГ является проведение массового скрининга всех новорожденных (в первый месяц жизни) на гипотиреоз с целью раннего назначения заместительной терапии.

Установлена тесная связь между сроками начала заместительной терапии и индексом интеллектуального развития ребенка. Для определения ВГ используется два теста — неонатальный на ТТГ и неонатальный на T_4 . Оптимальным считается определение одновременно ТТГ и T_4 , но для первичного скрининга достаточно одного из указанных тестов. Наиболее чувствительным является определение ТТГ, так как в большинстве случаев имеет место ВГ и, следовательно, низкий уровень T_4 в крови. В ответ на гипотироксинемия по принципу обратной связи увеличивается секреция ТТГ. Таким образом, при ВГ уже в первые дни жизни ребенка имеется четкий лабораторный критерий — высокий уровень неонатального ТТГ в крови.

Группы риска новорожденных по развитию транзиторного гипотиреоза следующие:

- 1) недоношенные дети;
- 2) новорожденные с низким весом при рождении, с внутриутробной гипотрофией;
- 3) новорожденные от матерей, получавших во время беременности тиреостатические препараты;
- 4) новорожденные от матерей с эндемическим зобом, не получавших во время беременности йодную профилактику;
- 5) новорожденные от матерей с заболеваниями ЩЖ.

Детям с лабораторными признаками врожденного гипотиреоза назначается заместительная терапия левотироксином. ТТГ нормализуется через 3–4 нед после начала заместительной терапии.

Встречаемые иногда во врачебной практике парадоксальные, на первый взгляд, случаи расхождений между клиническим представлением о больном и полученными данными его гормонального обследования могут быть не только и не столько следствием лабораторной ошибки, сколько отражением патологии транспорта или рецепции гормонов ЩЖ либо иных причин, рассмотренных выше. По-прежнему сохраняет свою актуальность фундаментальное правило клинической эндокринологии: «Между количеством гормона в крови и его эффектами на периферии не всегда стоит знак равенства».

Контрольные вопросы и задания

1. Строение и функции ЩЖ.
2. Какие гормоны секретирует в кровь ЩЖ?
3. Как регулируется синтез гормонов ЩЖ?
4. Какие факторы влияют на уровень гормонов ЩЖ?
5. Алгоритм обследования при подозрении на патологию ЩЖ.
6. Дайте классификацию заболеваний ЩЖ.
7. Перечислите причины возникновения гипо- и гипертиреоза.
8. Понятие о субклинических формах гипо- и гипертиреоза.
9. Синдром низкого T_3 , определение.
10. Каковы показания к проведению анализа на антитиреоидные антитела?
11. Приведите нормы ежедневного потребления йода.
12. Алгоритм обследования новорожденных на ВГ.

Тесты для контроля знаний

1. Гормоны гипоталамуса оказывают прямое действие:
 - а) на поджелудочную железу;
 - б) гипофиз;
 - в) надпочечники;
 - г) половые железы.
2. В передней доле гипофиза образуются:
 - а) вазопрессин;
 - б) тироксин;
 - в) АКТГ;
 - г) адреналин;
 - д) кортизол.
3. Гормонами щитовидной железы являются:
 - а) трийодтиронин;
 - б) тироксин;
 - в) тиреотропный гормон;
 - г) тирозин;
 - д) тиреоглобулин.
4. Тиреотропный гормон повышается:
 - а) при тиреотоксикозе;
 - б) опухоли гипофиза;

- в) первичном гипотиреозе;
 - г) травме гипофиза;
 - д) лечении гормонами ЩЖ.
5. Общий тироксин повышается:
- а) при диффузном токсическом зобе;
 - б) приеме препаратов, содержащих йод;
 - в) гипертиреозе;
 - г) опухоли гипофиза;
 - д) все перечисленное верно.
6. Для свободного тироксина справедливо следующее:
- а) составляет около 0,05% общего тироксина сыворотки;
 - б) способен превращаться в биологически активный трийодтиронин;
 - в) снижает секрецию ТТГ;
 - г) повышается при тиреотоксикозе;
 - д) все перечисленное верно.
7. Трийодтиронин повышается:
- а) при лечении эстрогенами;
 - б) гипофункции ЩЖ;
 - в) лечении глюкокортикоидами;
 - г) тиреотоксикозе;
 - д) все вышеперечисленное верно.
8. Показания к определению антител к тиреоидной пероксидазе:
- а) аутоиммунный тиреоидит;
 - б) подозрение на гипотиреоз;
 - в) для выявления наследственных аномалий синтеза ТСГ;
 - д) эутиреозный зоб.
9. Последствия повышенных концентраций антител к тканям ЩЖ у беременных:
- а) увеличивается накопление йода-131 в ЩЖ;
 - б) повышается риск развития послеродового тиреоидита;
 - в) повышается основной обмен;
 - г) повышается ТТГ;
 - д) повышается риск выкидыша на ранних сроках.
10. Для тиреоглобулина характерно следующее:
- а) предшественник T_3 и T_4 ;

- б) повышается под влиянием ТТГ;
- в) является маркером остатков опухоли после удаления ЩЖ;
- г) используется как маркер опухоли при лечении радиоактивным йодом;
- д) все перечисленное верно.

Ответы к тестовым заданиям

1 — б 3 — а, б 5 — д 7 — г 9 — б, д
2 — в 4 — в 6 — д 8 — а, д 10 — в

Ситуационные задачи

Задача 1. Больной М., 43 года, обратился в терапевтическое отделение с жалобами на чувство давления в области шеи, дискомфорт при глотании. При осмотре: щитовидная железа увеличена, плотная на ощупь, спаяна с окружающими тканями. На УЗИ: ЩЖ увеличена за счет левой доли, ткань железы большей частью гиперэхогенная, граница размыта. Уровень ТТГ — в норме. При пункционной биопсии: в препарате единичные клетки фолликулярного эпителия, значительное количество соединительно-тканых структур, макрофаги.

Поставьте диагноз.

Задача 2. Больная К., 42 года, обратилась с жалобами на чувство давления в области ЩЖ, выраженную слабость, отечность лица, снижение памяти, обильные менструации. Болеет 4 года. При осмотре: лицо бледное, одутловатое с желтушным оттенком, периорбитальный отек. Кожные покровы холодные, тургор кожи снижен. ЩЖ увеличена, узлы не пальпируются. УЗИ: увеличены обе доли и перешеек ЩЖ. Ткань имеет многочисленные гипоэхогенные участки. T_4 — 65 нмоль/л (норма 60–160), антитела к ТПО — 125 ЕД (норма до 30).

Какие дополнительные исследования следует провести для постановки диагноза?

Задача 3. Больная Ж., 50 лет, обратилась с жалобами на раздражительность, плаксивость, бессонницу, сердцебиение, подъемы артериального давления. При осмотре: истощена, кож-

ные покровы влажные, частота сердечных сокращений — 120 в минуту, АД — 150/100 мм рт. ст. ЩЖ диффузно увеличена, узлы не пальпируются. На УЗИ: увеличение обеих долей ЩЖ, многочисленные гипоехогенные участки. ТТГ не определяется, T_4 — 85 нмоль/л (норма 60–160 нмоль/л).

Поставьте диагноз.

Литература

1. Безлепкина О.Б. Врожденный гипотиреоз // Клинич. тиреология. 2004. Т. 2. № 1. С. 38–42.
2. Бережанская С.Б., Черных А.Г. Роль йоддефицита в этиопатогенезе транзиторного неонатального гипотиреоза // Педиатрия. 2005. № 1. С. 23–26.
3. Долгов В.В., Шабалова И.П. Лабораторная диагностика заболеваний щитовидной железы. М.: Триада, 2002. 98 с.
4. Жукова Т.П., Чаша Т.В. Профилактика йодного дефицита по результатам неонатального скрининга на врожденный гипотиреоз и профилактических осмотров // Проблемы соц. гигиены, здравоохранения и истории медицины. 2004. № 2. С. 44–45.
5. Медицинская лабораторная диагностика / Под ред. А.И. Карпищенко СПб.: Интермедика, 2001.
6. Мельниченко Г.А., Лесникова С.В. Стандартные подходы к лечению синдромов тиреотоксикоза и гипотиреоза // Consilium medicum. 2000. Т. 2. № 5. С. 221–226.
7. Самсонова Л.Н., Кисилева Е.В. Врожденный транзиторный гипотиреоз: распространенность, прогноз // Клинич. тиреология. 2004. Т. 2. № 1. С. 17–22.
8. Свиначев М.Ю., Коляденко В.Ф. Эпидемиология йодного дефицита в Саратовской области по результатам скрининга врожденного гипотиреоза // Рос. педиатр. журн. 2000. № 4. С. 21–24.
9. Селиванов Е.В., Звягинцев Е.Н. Лабораторная диагностика в клинике. Патология щитовидной железы. Барнаул: Фодиаг-Плюс, 2000. с.
10. Сибилева Е.И. Сезонная особенность транзиторной гипертиреотропинемии у новорожденных // Проблемы эндокринологии. 2004. № 5. С. 11–14.

11. *Суплотова Л.А., Губина В.В.* Скрининг врожденного гипотиреоза как дополнительный метод изучения эпидемиологии йод-дефицитных заболеваний // Проблемы эндокринологии. 1998. № 1. С. 19–21.
12. *Хосталек У.* Заболевания щитовидной железы и возможности их эффективного лечения: Сборник лекций. М., 1997. С. 6–12.
13. *Храмова Е.Б., Суплотова Л.А.* Развитие детей с транзиторным неонатальным гипотиреозом, проживающих в условиях йодной эндемии // Педиатрия. 2004. № 3. С. 10–15.
14. *Шилин Д.Е.* Исследование антитиреоидных антител и тиреоглобулина в диагностике и контроле терапии заболеваний щитовидной железы // Лаборатория. 1998. № 11. С. 3–6.
15. *Эндокринология.* М.: Практика, 1999. 1128 с.

Глава 8

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ОПУХОЛЕВОГО ПРОЦЕССА

В последние десятилетия отмечается неуклонный рост числа онкологических заболеваний, которые занимают ведущее место среди неинфекционных патологий.

Злокачественный рост представляет собой автономную неограниченную пролиферацию клеточного клона в структуре собственной ткани и за ее пределами, обусловленную сочетанными дефектами в механизмах регуляции клеточного цикла, дифференцировки, программированной гибели клеток (апоптоза).

Злокачественное перерождение нормальных клеток является относительно длительным процессом и может продолжаться годами.

Сформировавшаяся при действии канцерогена опухолевая клетка в отличие от нормоцита обладает иммортальностью — способностью к неограниченному числу удвоений. Иммортализация клетки приводит к аномально высокому накоплению потомков, что проявляется гиперплазией ткани. Раковая клетка утрачивает признаки дифференцировки и сходства с нормальными клетками ткани. Метаболизм клеток опухолевого клона при их суммарной массе в несколько граммов негативно сказывается на общем обмене веществ организма, приводит к значительным нарушениям углеводного, белкового, липидного и минерального обмена. На определенных стадиях развития злокачественных новообразований функциональные резервы органов и систем оказываются исчерпанными, наступает гибель организма.

Алгоритм обследования при подозрении на опухолевый рост

Лабораторное обследование онкологических больных позволяет во многих случаях судить о степени распространенности опухоли, функциональном состоянии жизненно важных органов и систем, сопутствующих заболеваниях, а в некоторых ситуациях и о локализации опухолевого процесса (рис. 8.1).



Рис. 8.1. Алгоритм обследования больных при подозрении на наличие злокачественных новообразований

По показателям крови можно выявить следующие лабораторные признаки опухолевых заболеваний: абсолютный первичный эритроцитоз (чаще при лимфогенном карциноматозе), нейтрофильный лейкоцитоз (при миелопролиферативных заболеваниях), эозинофилию (при гемобластозах и др.), базофилию (при миелопролиферативных заболеваниях), лимфоцитоз (при остром и хроническом лимфолейкозе, лимфосаркоме, саркоме

грудной клетки), моноцитоз (при остром моноцитарном лейкозе, миеломоноцитарном лейкозе, хроническом миелолейкозе, миеломной болезни, злокачественном гистиоцитозе), а также повышение скорости оседания эритроцитов (при множественной миеломе, лимфогранулематозе, лимфоме, остром лейкозе, карциноме, саркоме и др.), тромбоцитоз (при хроническом миелолейкозе, миелопролиферативных процессах и др.).

Для оценки общего биохимического статуса пациента определяют в сыворотке крови значения нескольких наиболее важных показателей: для исследования белково-синтетической функции печени — содержание общего белка, альбумина, мочевины, активность аланиновой трансаминазы; исследование почек и мочевыделительной системы — уровень мочевины; инсулярного аппарата поджелудочной железы — содержание глюкозы; определение активности щелочной фосфатазы в крови — косвенного маркера поражения костей скелета первичной опухолью или метастазами (табл. 8.1).

Таблица 8.1

**Интерпретация обнаруживаемых при общем скрининге
изменений биохимических констант**

Показатель	Спектр изменений
Мочевина	Увеличение содержания при нормальной концентрации креатинина свидетельствует об интенсивном распаде опухоли, а при повышенной его концентрации — о нарушении функции почек
Глюкоза	Увеличение содержания указывает на нарушение инсулярного аппарата, а снижение — на значительную утилизацию глюкозы опухолевыми клетками (например, при лимфосаркоме и некоторых быстрорастущих опухолях у детей)
Общий белок и альбумин	Увеличение содержания (при снижении концентрации альбумина) — характерный признак миеломной болезни. Снижение содержания обоих показателей указывает на метастатическое поражение печени, является отражением общего действия опухоли на организм
Белки острой фазы	Увеличение уровня свидетельствует о сопутствующем воспалительном процессе
Щелочная фосфатаза	Повышение активности свидетельствует о нарушении функции печени, в частности, в результате появления в ней метастазов; избыточная активность фермента в крови может быть следствием его гиперпродукции клетками остеогенной саркомы
Креатинкиназа	Повышение общей активности имеет место у больных с опухолями желудочно-кишечного тракта
Лактатдегидрогеназа	Повышение активности фермента имеет место при различных онкологических заболеваниях

Онкомаркеры

Как известно, симптомы и характер течения онкологических заболеваний весьма разнообразны. В связи с этим задача ранней диагностики рака остается крайне актуальной. Впервые возможность лабораторной диагностики злокачественных новообразований была доказана в 1964 г. отечественными учеными Г.И. Абелевым и Ю.С. Татариновым, которые предложили методику определения гепатокарциномы на ранней стадии с помощью специфического биохимического маркера альфа-фетопротеина (АФП). В последующие годы в лабораторной диагностике раковых заболеваний стали использоваться другие ассоциированные с опухолевым ростом биомолекулы, которые были объединены в группу биохимических онкомаркеров.

Опухолевыми маркерами (ОМ) называют вещества, которые синтезируются опухолевыми клетками или окружающими опухоль нормальными клетками в повышенных концентрациях. От соединений, продуцируемых нормальными клетками, они отличаются качественно (опухолеспецифичные) или количественно (ассоциированные с опухолями, но присутствующие также и в нормальных клетках). В большинстве случаев ОМ — это сложные белки с углеводным или белковым компонентом.

В настоящее время известны около 200 соединений, относящихся к онкомаркерам. Однако диагностическую значимость в клинической практике имеют только 20. Опухолевые маркеры представляют собой макромолекулы, в основном белки с углеводным или липидным компонентом. Их концентрация в периферической крови либо другой биологической жидкости в определенной степени коррелирует с наличием и ростом злокачественной опухоли. Скорость возрастания уровня ОМ обычно позволяет делать заключение о наличии и природе развития заболевания и метастазировании опухоли. Их концентрация ОМ повышается в крови не только при онкологических, но и при неонкологических заболеваниях и доброкачественных опухолях. Но сам факт повышения уровня онкомаркера свидетельствует о наличии патологического процесса и является основанием для дополнительного обследования больного (табл. 8.2).

Т а б л и ц а 8.2

Классификация онкомаркеров по их биологической функции

Группа онкомаркеров	Наименование
Онкофетальные антигены	Раково-эмбриональный антиген Альфа-фетопротеин Хорионический гонадотропин человека СА 125 СА 15-3 СА 19-9 СА 72
Ферменты	Кислая фосфатаза Нейронспецифическая енолаза Лактатдегидрогеназа
Гормоны	Адrenокортикотропный гормон Кальцитонин Антидиуретический гормон Паратгормон Плацентарный лактоген Пролактин
Рецепторы	Прогестероновые Эстрогенные
Другие соединения	Ферритин Бета-2-макроглобулин Иммуноглобулины

Характеристика опухолевых маркеров

Опухолевый маркер должен обладать следующими характеристиками:

- секретироваться в кровь в достаточном для выявления количестве только после злокачественной трансформации продуцирующей его клетки;
- его концентрация должна коррелировать с размером опухоли и со стадией развития заболевания.

Показания к проведению исследований опухолевых маркеров достаточно разнообразны:

- раннее выявление опухолевого процесса;
- мониторинг течения опухолевого заболевания;
- контроль эффективности проведенной терапии;
- прогнозирование развития некоторых опухолей;
- диагностика бессимптомных злокачественных новообразований;

- идентификация резидуальных опухолей;
- выявление лиц с повышенным риском развития злокачественных новообразований;
- мониторинг лиц из группы с высокой частотой развития опухолевого процесса в семьях;
- формирование групп с высоким риском развития «профессиональных» злокачественных новообразований и мониторинг за пациентами таких групп;
- мониторинг лиц, подвергшихся воздействию ионизирующего излучения в дозах, превышающих предельно допустимые;
- обследование лиц, проживающих в зонах экологического неблагополучия и в зонах с повышенной опасностью радиационного воздействия.

Применение опухолевых маркеров направлено на мониторинг течения заболевания, эффективности хирургического лечения и (или) радио-, хими-, а также гормонотерапии злокачественных новообразований и предклиническое выявление рецидивов и метастазов опухоли. Принципиально важно динамическое исследование уровня ОМ, нежели однократное определение их содержания. Динамический мониторинг ОМ позволяет иногда проводить дифференциацию между доброкачественными и злокачественными процессами, основываясь на характере повышения уровня маркеров, которое при доброкачественном процессе имеет тенденцию быть либо преходящим, либо оставаться на нижнем пределе диапазона патологических значений. В 50% случаев определение концентрации ОМ позволяет выявлять изменения развития опухолевого процесса на 1–6 мес раньше, чем другие диагностические методы, в том числе и инвазивные.

Определение концентрации ОМ необходимо проводить также после хирургического удаления опухоли. Как правило, в этот период отмечается нормализация уровня опухолевого маркера, причем важно учитывать период его полужизни. Если таковой не происходит или имеет место вторичный подъем уровня маркера после его нормализации, то с большой степенью вероятности можно предположить наличие либо местного рецидива, либо отдаленных метастазов.

Устойчивое снижение концентрации ОМ после начала химиотерапии свидетельствует об ее эффективности, в то время как отсутствие изменений или рост значений дают основание думать о резистентности опухолевого роста к проводимому лечению и, следовательно, о необходимости изменения терапевтического подхода. Изменение концентрации ОМ в ответ на проводимую тактику лечения хорошо коррелирует с клиническим состоянием пациента (ремиссия или прогрессирование опухолевого роста). Однако в течение первых нескольких дней после радио-, химиотерапии или после значительных манипуляций может наблюдаться транзиторный подъем уровня маркеров как результат деструкции опухоли.

Адекватное использование опухолевых маркеров в онкологии может принести пользу пациенту и даже уменьшить стоимость лечения. Вместе с тем, неспособность врача корректно оценить результаты тестирования ОМ может привести к ошибочному медицинскому решению клинической задачи.

Значение опухолевых маркеров нельзя переоценивать, а их определение следует рассматривать как дополнительный диагностический метод с относительной применимостью и точностью для каждого диагноза.

В соответствии с рекомендациями ВОЗ тактика определения уровня концентрации ОМ предусматривает ее определение перед началом лечения, затем в течение первого года наблюдения — 1 раз в месяц, в течение второго года — 1 раз в 2 мес, в течение третьего года — 1 раз в 3 мес, до 5 лет — 2 раза в год, после 5 лет — 1 раз в год. Для изучения концентрации опухолевых маркеров применяется иммуноферментный анализ с использованием двух моноклональных антител или электрохемилюминесцентный метод.

Факторы, влияющие на результаты оценки уровня опухолевых маркеров:

— условия подготовки сыворотки и ее хранения. Важно, чтобы сыворотка быть отделена от эритроцитов в течение 1 ч с момента забора крови и подвержена замораживанию при температуре -20°C ;

— гемолиз и иктеричная сыворотка;

— прием некоторых препаратов может приводить к ложным результатам (например, на фоне приема изоптина, верапамила, витамина С и эстрадиола возможно повышение уровня простат-специфического антигена, на фоне введения плацентарного альбумина — повышение уровня альфа-фетопротеина в крови);

— наличие антител к мышинным иммуноглобулинам (гетерофильные антитела) у пациентов, получавших мышинные иммуноглобулины при диагностической иммуносцинтиграфии или иммунотерапии, может обуславливать ложноположительные результаты в тест-системах, использующих моноклональные мышинные антитела;

— уровень онкомаркеров может быть повышен у лиц с иммунодефицитами;

— регистрируемый уровень некоторых опухолевых маркеров в значительной степени зависит от конкретного метода тестирования и от качества использованных реактивов.

В случае изменения метода тестирования или набора реактивов следует проверить в новом тесте предыдущую сыворотку крови больного. В настоящее время в онкологии идет активный поиск новых специфических маркеров, пригодных для диагностики злокачественных новообразований.

Специфические опухолевые маркеры

Основные опухолевые маркеры представлены в табл. 8.3.

Т а б л и ц а 8.3

Наиболее информативные опухолевые маркеры для диагностики злокачественных новообразований различной локализации

Локализация опухоли	Опухолевые маркеры	Норма
Рак молочной железы	СА 15-3, РЭА, пролактин, эстрадиол	СА 15-3 < 28 Ед/мл РЭА 0–5 нг/мл
Опухоли яичников: — эпителиальные — герминогенные — гранулезоклеточные	СА 125 СА 19-9 ХГЧ АФП	СА 125 <35 Ед/мл СА 19-9 <37 Ед/мл ХГЧ 0–5 МЕ/мл АФП <15 нг/мл
Опухоли яичек	β-ХГЧ, АФП	β-ХГЧ 0–5 МЕ/мл
Рак шейки матки	РЭА	РЭА 0–5 нг/мл
Рак вульвы	РЭА	РЭА 0–5 нг/мл
Рак эндометрия	СА 125, СА 19-9, SCC, РЭА	СА 125 <35 Ед/мл СА 19-9 <37 Ед/мл РЭА 0–5 нг/мл

О к о н ч а н и е т а б л . 8.3

Локализация опухоли	Опухолевые маркеры	Норма
Рак желудка	СА 72-4, РЭА, СА 19-9	СА 72-4 <3 нг/мл
Рак толстой кишки	РЭА, СА 19-9, СА 242	РЭА 0–5 нг/мл, СА 19-9 <37 Ед/мл
Рак поджелудочной железы	СА 242, СА 19-9	СА 242, СА 19-9 <37 Ед/мл
Рак предстательной железы	ПСА общий, ПСА свободный/ПСА общий	ПСА общий \leq 4 нг/мл
Рак легкого: – мелкоклеточный – плоскоклеточный – аденокарцинома – крупноклеточный	НСЕ, РЭА CYFRA 21-1, SCC, РЭА РЭА, Са 72-4, CYFRA 21-1 CYFRA 21-1, SCCA, РЭА	НСЕ <12,5 нг/мл CYFRA 21-1 <2,3 нг/мл
Рак щитовидной железы: – фолликулярный – медулярный	Тиреоглобулин, РЭА Кальцитонин, РЭА	Тиреоглобулин 0–85 нг/мл, РЭА 0–5 нг/мл Кальцитонин 10 пг/мл
Эндометриоз (доброкачественное заболевание, течение и эффективность лечения которого целесообразно контролировать)	СА 125, СА 19-9, РЭА	СА 125 <35 Ед/мл СА 19-9 <37 Ед/мл РЭА 0–5 нг/мл

Примечание. СА — опухолеассоциированный антиген; РЭА — раково-эмбриональный антиген; ХГЧ — хорионический гонадотропин человека; ПСА — простатспецифический антиген; SCCA — опухолеассоциированный антиген плоскоклеточной карциномы; НСЕ — нейронспецифическая енолаза.

Раковый эмбриональный антиген

Раковый эмбриональный антиген (РЭА) представляет собой гликопротеин с молекулярной массой 180 кДа. РЭА является опухолевоэмбриональным антигеном, продуцируемым в период жизни эмбриона и плода. Так как после рождения синтез этих антигенов подавлен, они практически не обнаруживаются в сыворотке здоровых взрослых индивидов. Однако в результате депрессии соответствующих генов, опухолевые эмбриональные антигены могут определяться в клетках некоторых типов развивающихся опухолей.

РЭА является белком острой фазы, поэтому его повышенный уровень может наблюдаться у больных с различными

заболеваниями. Умеренное и кратковременное повышение уровня РЭА отмечается при циррозе печени, хроническом гепатите, панкреатите, язвенном колите, болезни Крона, пневмонии, бронхите, туберкулезе, эмфиземе, муковисцидозе и аутоиммунных заболеваниях. В этих случаях незначительное увеличение уровня РЭА в серии анализов сменяется его снижением до нормальных значений после клинического улучшения. Напротив, при нелеченых злокачественных опухолях уровень РЭА постоянно возрастает, причем в начальной стадии заболевания его рост имеет экспоненциальный характер.

Основным показанием к определению РЭА является мониторинг развития колоректальной карциномы и эффективности терапии этого заболевания. Предоперационный уровень РЭА прогнозирует длительность жизни пациента: чем выше концентрация антигена, тем хуже прогноз. Уровень РЭА коррелирует со стадией опухоли. Он считается более чувствительным маркером для мониторинга состояния пациентов после радикальной операции, чем компьютерная томография, сонография и эндоскопия. Снижение концентрации маркера после лечения выступает показателем уменьшения объема опухоли. После успешно проведенной радикальной операции уровень антигена возвращается к нормальным значениям через 1–6 нед. Вторичное увеличение уровня свидетельствует о рецидиве опухоли или метастазах (табл. 8.4).

Таблица 8.4

Интерпретация результатов исследования уровня ракового эмбрионального антигена

Характер изменения уровня РЭА	Клиническое значение
Снижение до нормы через 1–6 нед после операции	Полное удаление опухолевой ткани
Сохранение повышенной концентрации	Наличие остаточной опухолевой ткани и (или) метастазов
Дополнительное повышение концентрации	Прогрессирование опухолевого процесса
Повторное повышение уровня после нормализации	Вероятный рецидив и (или) метастазы

Кроме того, повышение РЭА может иметь место при раке молочной железы, легкого, опухолях головы и шеи. Особенно высокий уровень антигена отмечается у пациентов с метастазами в кости и печень. Для повышения диагностической ценности

и чувствительности при верификации различных опухолей рекомендуется определять уровень РЭА совместно с различными органоспецифическими маркерами (СА 242, СА 19-9, СА 125).

Альфа-фетопротеин

Альфа-фетопротеин — гликопротеин с молекулярной массой 61–75 кДа, который образуется в печени плода и в желточном мешке. Во время беременности концентрация альфа-фетопротеина в сыворотке крови у женщин увеличивается и достигает максимума в последнем триместре. Диагностическое значение имеют аномально высокие темпы повышения уровня АФП в сыворотке крови матери в период с 15-й по 20-ю нед беременности, что также может свидетельствовать о наличии двойни.

Контроль уровня АФП позволяет проводить мониторинг антенатального периода. При этом важно тестирование АФП в амниотической жидкости, выявление существенно повышенного уровня которой свидетельствует, как правило, о достаточно высокой вероятности дефекта развития нервной трубки. Показатели АФП, значительно превышающие нормальный уровень для конкретного периода беременности, могут быть обусловлены поражениями почек и желудочно-кишечного тракта. У здоровых мужчин и небеременных женщин уровень АФП крайне низкий (менее 15 нг/мл).

АФП выступает маркером мониторингирования течения и эффективности терапии гепатоцеллюлярной карциномы. При злокачественных новообразованиях содержание АФП в сыворотке крови постепенно увеличивается и остается постоянно высоким. При доброкачественных опухолях уровень АФП редко превышает 100 нг/мл и практически никогда — 500 нг/мл. Повышенный уровень определяется также приблизительно у 9% пациентов с метастатическим поражением печени, при злокачественных опухолях молочной железы, бронхов.

Тест на АФП также пригоден для раннего выявления гепатоцеллюлярной карциномы в группах риска, т.е. у пациентов с циррозом печени, хроническим вирусным гепатитом, а также у лиц с наследственной предрасположенностью к гепатобилиарному раку. Сыворотка крови пациентов данной категории должна

тестироваться на АФП дважды в год. Постоянное возрастание активности глутаматдегидрогеназы, щелочной фосфатазы, аспартатаминотрансферазы или увеличение содержания фракции альфа-глобулинов при исследовании на электрофореграмме у пациентов с циррозом печени должно быть расценено как показание к тестированию АФП с целью раннего выявления первичной гепатоцеллюлярной карциномы.

Специфический антиген предстательной железы

Ранняя диагностика опухолевых заболеваний предстательной железы представляет значительные трудности в связи со скудностью клинической симптоматики, схожестью клиники с проявлениями хронического простатита, гипертрофии и аденомы предстательной железы. Клинически подозреваемый и подтвержденный гистологически рак простаты диагностируется лишь у 40% пациентов, в 60% случаев — на аутопсии. Эти данные убеждают в важности своевременной диагностики рака предстательной железы.

Простатспецифический антиген (ПСА) является гликопротеидом. Он обнаруживается в экскреторных протоках простаты и функционирует как сериновая протеаза, необходимая для уменьшения вязкости спермы. Биологический период полужизни ПСА равен 2–3 дням. Верхняя граница нормы уровня ПСА у мужчин без гипертрофии железы составляет 4 нг/мл. Значительное повышение уровня данного антигена в сыворотке крови может быть обнаружено при гипертрофии простаты.

ПСА является важным маркером для диагностики и мониторинга течения рака предстательной железы. Его уровень коррелирует со стадией развития рака простаты: чем больше стадия, тем выше уровень ПСА. Корреляция уровня антигена с клиническими признаками эффективного лечения рака предстательной железы позволяет использовать в качестве маркера наступления периода ремиссии или, напротив, рецидива заболевания. После тотальной простатэктомии ПСА обнаруживаться не должен.

Расписание для иммуноферментного анализа представляет следующим: ПСА определяется перед началом лечения;

в течение первого года — при каждом курсе терапии, затем ежеквартально; до 5 лет — 2 раза в год; после 5 лет — 1 раз в год.

Последние исследования показали, что ПСА может использоваться для скринингового обследования мужчин старше 50 лет. Определение уровня маркера позволяет диагностировать рак простаты за несколько лет до его клинического проявления.

Для установления различий между доброкачественной гиперплазией и злокачественной опухолью простаты рекомендуется определять как общий, так и свободный ПСА: у пациентов с раком простаты уровень свободного ПСА ниже, чем у пациентов с доброкачественной опухолью предстательной железы. На этом основана дифференциальная диагностика рака и гиперплазии предстательной железы: у здоровых лиц и у пациентов с гиперплазией соотношение свободного ПСА к общей фракции составляет 15–20%, у больных раком простаты — менее 15%. При получении пограничного значения следует проводить повторные исследования примерно через 6 мес.

Раковый антиген 125

Раковый антиген 125 (СА 125) является вторым после СА 19-9 маркером, обнаруженным в результате использования гибридной технологии. Его молекулярная масса составляет 200 кДа. Данный маркер представляет собой дифференцировочный антиген, который происходит из дериватов целомического эпителия тканей плода. Он присутствует в клетках линий серозных карцином яичника, а также в участках ткани серозных аденокарцином, но не в слизистых карциномах яичника. Основным источником СА 125 в организме женщин является эндометрий.

Верхняя граница нормы СА 125 — 35,0 Ед/мл. Уровень маркера у женщин-доноров варьирует в пределах 12,9–25,9 Ед/мл.

Следует помнить о закономерностях изменения содержания СА 125 в зависимости от фазы менструального цикла: его уровень несколько увеличивается в фолликулярную фазу, выходит на плато в лютеиновую фазу, имеет пик во время менструации, а затем снижается до уровня фолликулярной фазы. Повышенный уровень маркера отмечается в первом триместре беременности,

поэтому при обнаружении у женщин детородного возраста высокой концентрации СА 125 требуется провести тест на наличие беременности.

Возможно увеличение уровня данного антигена у женщин с различными доброкачественными гинекологическими опухолями и воспалительными заболеваниями гинекологической сферы, а также при аутоиммунных заболеваниях, гепатите, хроническом панкреатите и циррозе печени, опухолях желудочно-кишечного тракта, бронхов и молочной железы.

В настоящее время СА 125 является наиболее важным опухолевым маркером для мониторинга течения и эффективности терапии при различных типах рака яичника.

СА 125 следует рассматривать как стадийспецифический маркер рака яичника: существует положительная корреляция между клинической стадией рака и уровнем СА 125. Однако степень повышения концентрации антигена не зависит от объема первичного опухолевого узла: высокий уровень маркера может регистрироваться при небольшой по размерам первичной опухоли с множеством мелких метастазов по брюшине. После операции и химиотерапии уровень маркера в сыворотке крови снижается и во время ремиссии устанавливается на базальном уровне, индивидуальном для каждой пациентки.

Рецидив рака яичников отличается быстрым и агрессивным, часто бессимптомным развитием. Ранняя инструментальная диагностика рецидива затруднена, так как в большинстве случаев опухоль представляет собой микроскопическое образование, размеры которого находятся за пределами чувствительности современных инструментальных методов исследования (компьютерная томография, ультразвуковое сканирование). По причине позднего распознавания лишь 18–20% больных с рецидивами рака яичников имеют срок жизни до 2 лет после их выявления.

В настоящее время определение уровня СА 125 служит весьма чувствительным и надежным методом раннего диагностирования и прогнозирования рецидива рака яичников. Тест позволяет выявить рецидив заболевания за 3–4 мес до его клинического проявления. Индикатором рецидива рака яичника является не

столько уровень концентрации СА 125, сколько его положительная динамика. Показано, что у пациенток с уровнем маркера менее 17,5 Ед/мл и ежемесячным его приростом, не превышающим 20% от предыдущего значения маркера, в ближайшие 6 мес рецидива не наблюдается. В случае рецидива заболевания ежемесячный прирост значения уровня СА 125 превышает 20%. Антиген СА 125 может быть использован как диагностический маркер при скрининговом обследовании женщин старше 50 лет. Устойчивое повышение уровня СА 125 в крови у здоровых женщин следует считать ранним признаком возможного развития в будущем рака яичника.

Раковый антиген 242

На сегодняшний день одним из основных маркеров, используемых для ранней диагностики и мониторинга рака поджелудочной железы, толстой и прямой кишки, является раковый антиген 242 (СА 242), который позволяет проводить диагностику на ранних стадиях. Так, при раке поджелудочной железы уже вначале заболевания специфичность этого маркера достигает 90%. С помощью теста СА 242 удается прогнозировать развитие рецидива колоректального рака за 5–6 мес. Высокая специфичность антигена позволяет использовать тест для дифференциальной диагностики онкологических и доброкачественных заболеваний гепатобилиарной зоны.

В настоящее время успешно используется комбинация определения уровня СА 242 и РЭА при диагностике и мониторинге развития рака толстой и прямой кишки. Доказано, что одновременное использование этих двух маркеров значительно повышает чувствительность тестов как при первичном выявлении заболевания, так и при оценке эффективности лечения.

Раковый антиген 19-9

Раковый антиген 19-9 (СА 19-9) представляет собой гликолипид с молекулярной массой 500 кДа. Он является компонентом многих клеток слизистой оболочки. Этот маркер обнаруживается в эпителии желудка, кишечника и поджелудочной железы

плода и в значительно более низких концентрациях — в поджелудочной железе, печени и легких взрослых людей.

СА 19-9 считается маркером выбора при диагностике карциномы поджелудочной железы, однако не позволяет осуществлять раннюю верификацию заболевания (чувствительность теста составляет лишь 82%). Не обнаружена корреляция между концентрацией маркера и массой опухоли. Высокий уровень данного антигена свидетельствует о наличии отдаленных метастазов.

Кроме того, СА 19-9 используется при определении гепатобилиарной карциномы. Однако следует помнить, что он выводится исключительно с желчью, поэтому даже незначительный холестаз вследствие доброкачественных новообразований и (или) воспалительного процесса может быть причиной значительного повышения уровня СА 19-9. Постоянный рост уровня антигена в отсутствие или при статических признаках воспаления или холестаза позволяет с большой долей вероятности предположить наличие злокачественного новообразования.

СА 19-9 применяется для диагностики карциномы желудка. Вместе с тем после введения в клиническую практику исследования уровня ракового антигена 72-4 (СА 72-4) значимость СА 19-9 для диагностики опухоли данной локализации несколько уменьшилась. Сочетание СА 72-4 и РЭА позволяет достигнуть максимальной чувствительности (72%) при высокой специфичности (95%), поэтому в настоящее время именно эта комбинация рекомендуется для мониторинга течения и эффективности терапии карциномы желудка.

Раковый антиген 15-3

В настоящее время для диагностики рака молочной железы используется большое количество маркеров. Наибольшее признание из них получил раковый антиген 15-3 (СА 15-3).

СА 15-3 представляет собой гликопротеин с молекулярной массой 350 кДа, он секретируется не только раковыми клетками молочной железы, но и эпителиальными опухолями яичников и эндометрия матки. СА 15-3 обладает высокой специфичностью в отношении рака молочной железы, однако его чувствительность

достаточно низка (15–35%) у пациенток с ранним раком молочной железы. В то же время низкий уровень маркера не исключает наличия первичной или метастатической опухоли. Высокий уровень СА 15-3 у больных с раком молочной железы почти всегда отражает наличие отдаленных метастазов.

Наиболее часто СА 15-3 используется для мониторинга течения заболевания и эффективности терапии при карциноме молочной железы. С его помощью метастатический процесс может быть диагностирован на более ранней стадии, чем при использовании клинических и инструментальных или радиологических методов исследования. Повышение уровня маркера в сыворотке крови отмечается на 6–8 мес раньше появления признаков прогрессирования заболевания (табл. 8.5).

Таблица 8.5

Спектр информации, получаемой при применении онкомаркера СА 15-3

Цель исследования	Характер информации
Дополнение к цитодиагностике	В случае сомнительного или отрицательного ответа цитопатолога
Оценка радикальности операции	Уровень СА 15-3 в сыворотке крови снижается, если проведена радикальная операция и отсутствуют отдаленные метастазы
Ранняя диагностика рецидива и метастазирования опухоли	Повышение уровня СА 15-3 у радикально оперированных больных раком молочной железы за 6–8 мес предсказывает появление рецидива или отдаленных метастазов
Оценка эффективности лекарственного лечения	Корреляция низкого уровня СА 15-3 с клиническими признаками эффективного лечения рака молочной железы позволяет использовать СА 15-3 в качестве критерия для индивидуализации терапии

Рекомендуется следующее расписание для проведения иммуноферментного анализа: уровень СА 15-3 определяется перед началом лечения, в течение первого года — при каждом курсе терапии, затем ежеквартально; до 5 лет — 2 раза в год; после 5 лет — 1 раз в год.

Хорионический гонадотропин человека

Хорионический гонадотропин человека представляет собой гликопротеиновый гормон с молекулярной массой 46 кДа (верхняя граница нормы у мужчин и небеременных женщин составляет 5 МЕ/мл). У мужчин и небеременных женщин повышение

уровня ХГЧ является верным признаком наличия злокачественной опухоли.

Тестирование ХГЧ проводится в основном для мониторинга гермином яичка и опухоли яичника. Чувствительность теста при карциноме яичка и плаценты составляет 100%, при хорионаденоме — 97%, при семиноме — 7–14%.

После полного удаления опухоли уровень ХГЧ должен снижаться до нормальных значений. Устойчивое повышение концентрации маркера после орхэктомии показывает, что опухоль не ограничена яичком и необходимо проведение первой линии химиотерапии. Общеизвестно, что повышение концентрации опухолевых маркеров несовместимо с ремиссией и свидетельствует о прогрессировании заболевания задолго до клинического диагностирования рецидива (за 3–4 мес).

Повышение уровня маркера при отсутствии клиники подразумевает активную стадию болезни и является основанием для начала лечения. Вместе с тем нормальные значения концентрации маркеров в сыворотке крови не всегда исключают прогрессирование заболевания. При очень небольшом объеме опухоли, микрометастазах могут быть получены ложноотрицательные результаты при тестировании сыворотки крови. Чаще всего это наблюдается при лизисе опухолевых клеток в результате химиотерапии и, как правило, носит транзиторный характер.

Иммуномаркеры рака легкого

В онкологической практике определение уровня иммуномаркеров целесообразно прежде всего для проведения первичной дифференциальной диагностики мелкоклеточного и немелкоклеточного рака легкого, что чрезвычайно важно для выбора тактики лечения.

Злокачественным клеткам опухолей легкого свойственна эктопическая экспрессия и секреция «чужих» антигенов, которые используются в качестве иммуномаркеров. Маркером выбора при мелкоклеточном раке легкого является нейронспецифическая енолаза. Этот иммуномаркер используется как для диагностики заболевания, так и для мониторинга эффективности

терапии. Поскольку при неудачно расположенной опухоли проведение бронхоскопии и бронхиального лаважа в 10–20% случаев не позволяет установить гистологический тип опухоли, весьма целесообразно для уточнения гистологического диагноза использовать онкомаркеры. При мелкоклеточной карциноме легких в 80% случаев уровень НСЕ составляет 25 нг/мл, в 40% — 70 нг/мл (верхняя граница нормальных значений концентрации этого иммуномаркера у здоровых лиц составляет 12,5 нг/мл). Повышенный уровень НСЕ выявляется также при нейробластомах.

Маркером для немелкоклеточного рака легкого выступает CYFRA 21-1 (фрагмент цитокератина 19).

В тесте на опухолевый маркер CYFRA 21-1 используются два моноклональных антитела для определения фрагмента цитокератина 19 с молекулярным весом 30 кДа. Верхняя граница нормы этого иммуномаркера соответствует 2,3 нг/мл.

Всестороннее исследование всех типов солидных опухолей показало, что CYFRA 21-1 является результативным маркером при немелкоклеточной карциноме легких и особенно полезным для диагностики плоскоклеточной карциномы легких. Кроме того, CYFRA 21-1 весьма эффективен для мониторинга течения мышечно-инвазивной карциномы мочевого пузыря.

Показанием к определению уровня онкомаркеров является необходимость выявления первичной локализации опухоли при обнаружении отдаленных метастазов. При этом одиночное определение практически любого онкомаркера, за исключением случаев с очень высокими значениями, не несет точной информации, когда диагностика первичной опухоли не составляет труда. Так, концентрация РЭА может быть умеренно повышенной при многих заболеваниях, но, если одновременно увеличен уровень СА 15-3, следует предположить наличие первичной опухоли в молочной железе, НСЕ — в легком, СА 19-9 — в пищеварительном тракте. Поэтому при метастазах рака неизвестной первичной локализации следует использовать панель онкомаркеров (табл. 8.6). При этом важно знать, что отсутствие даже одного из них может отрицательно повлиять на интерпретацию результатов.

Таблица 8.6

**Панель онкомаркеров, используемая в поиске первичной опухоли
при раке неизвестной локализации**

Локализация первичной опухоли	Онкомаркеры с повышенным уровнем							
	АФП	ХГЧ	РЭА	СА 19-9	СА 125	СА 15-3	ПСА	НСЕ
Легкое			+			+		+
Молочная железа			+			+		
Пищеварительный тракт			+	+				
Гепатоцеллюлярная карцинома	+							
Предстательная железа							+	
Яичники					+			
Герминогенные опухоли	+	+						

Таким образом, использование опухолевых маркеров в структуре диагностического алгоритма злокачественных новообразований направлено на решение задач, связанных с возможностью достаточно ранней дифференциальной диагностики опухоли, определения эффективности терапии и получения достоверной прогностической информации. Правильная интерпретация результатов тестирования уровня онкомаркеров требует внимания к используемым методам, знания профиля специфичности и чувствительности опухолевого маркера, а также факторов, влияющих на результаты тестирования *in vivo* и *in vitro*.

Контрольные вопросы и задания

1. Что такое злокачественный рост?
2. Приведите алгоритм обследования пациента при подозрении на наличие опухоли.
3. Дайте определение опухолевых маркеров.
4. Классификация опухолевых маркеров.
5. Каковы характерные черты идеального опухолевого маркера?
6. Уточните показания к проведению исследований на опухолевые маркеры.
7. Назовите факторы, влияющие на результаты анализа на опухолевые маркеры.

8. Назовите наиболее информативные опухолевые маркеры для диагностики карцином различной локализации.

9. Каковы закономерности определения в сыворотке крови опухолевых маркеров после комбинированной терапии?

Тесты для контроля знаний

1. Альфа-фетопротеин повышается в сыворотке крови:
 - а) при первичном раке печени;
 - б) зародышевой опухоли — тератоме;
 - в) хориокарциноме;
 - г) эмбриональной карциноме;
 - д) все перечисленное верно.
2. Повышение нейронспецифической енолазы в сыворотке крови имеет значение для диагностики:
 - а) мелкоклеточного рака легкого;
 - б) нейробластом;
 - в) лейкозов;
 - г) немелкоклеточного рака легкого;
 - д) все перечисленное верно;
 - е) все перечисленное не верно.
3. Для простатспецифического антигена характерно следующее:
 - а) выделяется эпителием канальцев предстательной железы;
 - б) чувствительность его определения в диагностике рака простаты выше, чем при определении активности простатического изофермента кислой фосфатазы;
 - в) определяется для слежения за лечением и рецидивом рака простаты;
 - г) при лечении следует сравнивать с предыдущими показаниями концентрации у данного больного;
 - д) все перечисленное верно.
4. Антиген СА 15-3 может повышаться в сыворотке крови:
 - а) при раке молочной железы;
 - б) лейкозах;
 - в) лимфогранулематозе;
 - г) ангиоме;

- д) все перечисленное верно.
5. Маркер СА 19-9 повышается в сыворотке крови:
- а) при злокачественной опухоли поджелудочной железы;
 - б) раке легкого;
 - в) карциноме желчного пузыря;
 - г) злокачественной опухоли желудка;
 - д) все перечисленное верно.
6. Опухолоассоциированный антиген СА 125 повышается в сыворотке крови:
- а) при лейкозах;
 - б) раке желудка;
 - в) раке простаты;
 - г) раке яичников;
 - д) все перечисленное верно.
7. Раково-эмбриональный антиген является:
- а) скрининговым маркером рака желудка;
 - б) специфическим тестом на рак легкого;
 - в) маркером различной локализации опухоли и метастазов;
 - г) определение в сыворотке крови используется для диагностики рецидива рака прямой и толстой кишки после хирургического вмешательства.

Ответы к тестовым заданиям

- | | |
|-------|-------|
| 1 — а | 5 — г |
| 2 — а | 6 — г |
| 3 — д | 7 — в |
| 4 — а | |

Ситуационные задачи

Задача 1. Больной П., 59 лет, наблюдался у уролога по поводу аденомы предстательной железы. Мониторинг течения заболевания проводился с использованием ИФА по определению уровня ПСА. Уровень ПСА в течение года оставался стабильным (средняя концентрация 6,7 нг/мл). При очередном обследовании было обнаружено увеличение концентрации ПСА до 22 нг/мл.

Что можно сказать в отношении диагноза у данного пациента? Какова тактика дальнейшего ведения больного?

Задача 2. Больной Н., 70 лет, поступил в пульмонологическое отделение. При рентгенологическом обследовании обнаружены метастатические очаги в легочной ткани. Очаг первичной локализации опухоли не установлен. Уровень ПСА в сыворотке крови составил 45,6 нг/мл. УЗИ предстательной железы не выявило каких-либо изменений.

Каков алгоритм дальнейшего обследования пациента?

Задача 3. Больная К., 45 лет, наблюдалась у гинеколога по поводу кисты яичника и эндометриоза. В процессе мониторинга больной 1 раз в 6 мес проводилось определение в сыворотке крови уровня СА 125 (средняя концентрация маркера составляла 45,6 нг/мл). Жалоб больная не предъявляла. При очередном исследовании концентрация СА 125 составила 125 нг/мл.

Каковы предположительный диагноз и дальнейшая тактика обследования больной?

Задача 4. Больная Н., 38 лет, поступила в гастроэнтерологическое отделение с жалобами на тошноту, рвоту, похудание и отвращение к пище. Жалобы предъявляет в течение 5 мес, менструальный цикл сохранен. При обследовании сыворотки крови выявлены повышенные концентрации АФП в пределах 35 МЕ/мл, концентрация РЭА 4 нг/мл.

Каковы алгоритм дальнейшего обследования больной и предположительный диагноз?

Литература

1. Воробьев А.С. Скрининг мужского населения, стандартное обследование пациентов, классификация рака предстательной железы // Практическая онкология: Рак предстательной железы. 2001. Т. 2. № 6. С. 8–16.
2. Имянитов Е.Н., Хансон К.П. Эпидемиология и биология рака мочевого пузыря // Практическая онкология: Рак мочевого пузыря. 2003. Т. 4. № 4. С. 191–196.
3. Клиническая иммунология и аллергология // Под ред. Г. Лолора-мл., Т. Фишера. М.: Практика, 2000. 124 с.

4. Кушлинский Н.Е. Возможности, неудачи и перспективы исследования опухолевых маркеров в онкологической клинике // Клинич. лаб. диагностика. 1999. № 3. С. 25–32.
5. Медицинская лабораторная диагностика // Под ред. А.И. Карпищенко. СПб.: Интермедика, 2001. 407 с.
6. Молчанов О.Е., Попова И.А., Козлов В.К., Карелина М.И. Современные тенденции иммунотерапии злокачественных опухолей. СПб., 2001. 85 с.
7. Нечаева И.Д. Опухоли яичников. Л., 1987. 215 с.
8. Новик В.И. Эпидемиология рака шейки матки, факторы риска, скрининг // Практическая онкология: Рак шейки матки. 2002. Т. 3. № 3. С. 156–165.
9. Рак молочной железы / Под ред. Н.Е. Кушлинского, С.М. Портного, К.П. Лактионова. М.: Изд-во РАМН, 2005. 480 с.
10. Рак предстательной железы / Под ред. Н.Е. Кушлинского, Ю.Н. Соловьева, М.Ф. Трапезниковой. М.: Изд-во РАМН, 2002. 432 с.
11. Рекомендации по применению онкомаркеров в клинической практике / European Group on Tumor Markers. 1999. 56 с.
12. Ткачёва Г.А. Иммунологические маркеры опухолей человека. М.: ДиагноТех, 1993. 78 с.
13. Шелепова В.М. Значение онкомаркера СА 125 для ранней диагностики рецидивов рака яичников // Лаборатория. 2000. № 1. С. 18–19.
14. Шелепова В.М. Значение опухолевых маркеров у больных с метастазами рака неизвестной первичной локализации // Лаборатория. 2002. № 3. С. 14–15.
15. Чисов В.И., Сергеева Н.С., Маршутина Н.В., Мишунина М.П. Опухолеассоциированные маркеры в скрининговых программах по выявлению злокачественных новообразований: реальность и перспективы // Молекулярная медицина. 2006. № 1. С. 2–9.

Глава 9

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА НАРУШЕНИЙ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА

Понятие о дислипопроteinемиях

Основной целью исследования липидного обмена в клинической практике являются обнаружение и верификация дислипопroteinемии как одного из главных факторов риска развития сердечно-сосудистых заболеваний. Исследование липидного спектра крови проводят:

- при ишемической болезни сердца (ИБС), нарушениях мозгового кровообращения и кровотока в крупных артериях;
- у лиц с отягощенной наследственностью (ИБС у родителей в возрасте до 60 лет);
- при наличии локальных липидных отложений (ксантомы, липидные стрии, липидная дуга роговицы) в возрасте до 50 лет.

Дислипопroteinемии (ДЛП) — это генетически детерминированные или приобретенные нарушения метаболизма липопротеинов.

Дислипопroteinемии являются одним из главных факторов риска многих заболеваний, в первую очередь атеросклероза. Проспективные клинические исследования показали, что своевременная профилактика ДЛП у лиц из группы риска развития ишемической болезни сердца замедляет рост атеросклеротических бляшек и даже вызывает их регрессию.

Накапливается все больше данных о молекулярных механизмах развития атеросклероза и многочисленных наследственных ДЛП. Установлено, что клинические проявления и тяжесть дислипопroteinемий в значительной мере зависят от факторов окружающей среды, от рациона и режима питания, а также от

сопутствующих заболеваний. Дислипопроотеинемии наблюдаются при ожирении, сахарном диабете, гипотиреозе, болезнях почек и печени. Течение и прогноз дислипопроотеинемий, с одной стороны, зависят от тяжести основного заболевания, а с другой во многом определяют его исход. В связи с этим в последнее время большое внимание уделяется своевременной диагностике дислипопроотеинемий и их коррекции.

Липопроотеины и транспорт липидов

Структура и функции липопроотеинов. Липиды выполняют самые разнообразные функции. Они входят в состав клеточных мембран, служат предшественниками стероидных гормонов, желчных кислот, простагландинов и фосфоинозитидов. В крови содержатся отдельные компоненты липидов (насыщенные, моно- и полиненасыщенные жирные кислоты), триглицериды, холестерин, эфиры холестерина и фосфолипиды. Все эти вещества нерастворимы в воде, поэтому в организме имеется сложная система транспорта липидов. Свободные (неэтерифицированные) жирные кислоты переносятся кровью в виде комплексов с альбумином. Триглицериды, холестерин, эфиры холестерина и фосфолипиды транспортируются в форме *водорастворимых липопроотеинов*. Липопроотеины — это сферические частицы, состоящие из гидрофобной сердцевины и гидрофильной оболочки. Сердцевина содержит неполярные липиды — триглицериды и эфиры холестерина. Оболочка построена из полярных липидов — холестерина и фосфолипидов, причем заряженные концы этих молекул обращены наружу. Кроме того, в состав оболочки входят апопроотеины — белки, нековалентно связанные с фосфолипидами и холестерином. Апопроотеины поддерживают структуру липопроотеиновых частиц и обеспечивают их взаимодействие с рецепторами липопроотеинов. Циркулируя в крови, липопроотеиновые частицы обмениваются между собой поверхностными липидами и апопроотеинами. Последние служат «визитной карточкой» ЛП, поскольку рецепторы на разных клетках распознают только определенные апопроотеины.

Липопроотеины подразделяют на несколько классов в зависимости от их плотности (которую оценивают путем ультрацент-

рифугирования) и подвижности при электрофорезе. Плотность липопротеиновой частицы определяется отношением апопротеинов к липидам: чем больше это отношение, тем выше плотность. Подвижность при электрофорезе зависит от содержания апопротеинов и полярных липидов. В крови, взятой натощак, присутствуют только липопротеины очень низкой плотности (ЛПОНП), низкой плотности (ЛПНП) и высокой плотности (ЛПВП), тогда как другие липопротеины (хиломикроны, остаточные компоненты хиломикронов, а также липопротеины промежуточной плотности (ЛППП)) выявляются только после приема пищи или при нарушениях обмена липидов. Суммарные характеристики ЛП плазмы крови человека (состав и физико-химические свойства) представлены в табл. 9.1.

Таблица 9.1

Состав и физико-химические свойства липопротеинов плазмы крови человека

Параметр	Хиломикроны	ЛПОНП	ЛППП	ЛПНП	ЛП (а)	ЛПВП
Плотность, г/мл	Менее 0,95	0,96–1,006	1,007–1,019	1,02–1,063	1,064–1,125	1,064–1,210
Диаметр, нм	80–120	30–80	23–35	18–25	21–26	5–12
Электрофоретическая подвижность	Остаются на старте	Пре-β	Широкая β	β	Пре-β	α
Место образования	Тонкий кишечник	Печень	Катаболизм ЛПОНП	Катаболизм ЛПОНП через ЛППП	—	Тонкий кишечник, печень. Катаболизм хиломикронов и ЛПОНП
Основная функция	Транспорт экзогенных ТГ	Транспорт эндогенных ТГ	Предшественник ЛПНП	Транспорт холестерина в печень	—	Обратный транспорт холестерина из тканей
Состав, % от общей массы: триглицериды	85	50	26	10	6	4
холестерин	4	20	34	45	44	17
фосфолипиды	9	20	22	20	20	24
белок	2	10	18	25	30	55
апобелки	A, B48, C, E	B100, C, E	B100, E	B100	Апо(а)–B100	A, C, E
Период полураспада	10–15 мин	2–4 ч	5–8 ч	2,5 сут	—	3–5 сут

Хиломикроны (ХМ) — транспортная форма экзогенных жирных кислот, триглицеридов и холестерина. Образование их происходит в эпителиальных клетках слизистой кишечника, далее они поступают в лимфатические сосуды и через грудной лимфатический проток в большой круг кровообращения. В крови обмениваются с ЛПВП апопротеинами: отдают часть апопротеинов А и получают апопротеины С и Е. В капиллярах жировой ткани, миокарда, скелетных мышц и молочных желез хиломикроны расщепляются липопротеинлипазой, расположенной на поверхности эндотелия, освобождаются компоненты оболочки, содержащие апопротеины С и остаточный компонент ХМ (сердцевина), имеющий большое количество эфиров холестерина и апопротеины Е и В₄₈. Компоненты оболочки хиломикронов захватываются частицами ЛПВП, а сердцевина хиломикронов удаляется из крови в печени, где есть рецепторы апопротеина Е. Сами хиломикроны не обладают атерогенными свойствами, в то время как их остаточные компоненты атерогенны. Показано, что при семейной гипертриглицеридемии определяется повышенный уровень ЛПОНП и остаточных компонентов хиломикронов.

ЛПОНП являются основной транспортной формой эндогенных триглицеридов, синтезирующихся в печени, и главным источником триглицеридов для скелетных мышц и миокарда. В состав ЛПОНП входят апопротеины С, Е и В₁₀₀. Известно, что развитие атеросклеротического процесса ускоряется на фоне повышенной концентрации ЛПОНП при сахарном диабете и болезнях почек (Перова Н.В., 2004).

ЛППП образуются в капиллярах скелетных мышц, миокарда и жировой ткани из ЛПОНП при расщеплении липопротеинлипазой. В печени половина ЛППП превращается в ЛПНП под действием триацилглицероллипазы, а оставшиеся ЛППП связываются с рецепторами гепатоцитов, подвергаются эндоцитозу и разрушаются. При семейной гиперхолестеринемии с фенотипом IIb, гиперлипопротеинемии типа III и употреблении жирной пищи уровень ЛППП в крови повышен, что увеличивает риск развития атеросклероза.

ЛПНП являются конечными продуктами расщепления ЛПОНП и ЛППП. В составе ЛПНП содержится примерно 65–70% всего холестерина плазмы, преимущественно в виде эфиров холестерина, присутствует один апопротеин — В100. Около 70% ЛПНП удаляется из крови в печени с помощью высокоспецифичных рецепторов ЛПНП — апопротеин В-, Е-рецепторов. Остальные частицы захватываются клетками ретикулоэндотелиальной системы с помощью менее специфичных нейтрализующих рецепторов. Синтез апопротеина В-, Е-рецепторов в печени подавляется при повышении концентрации ЛПНП. Напротив, количество нейтрализующих рецепторов на клетках ретикулоэндотелиальной системы не зависит от уровня ЛПНП. Нарушение их захвата в печени (вследствие дефекта апопротеина В100 или дефекта апопротеин В-, Е-рецепторов) приводит к накоплению в других тканях и органах. Избыток ЛПНП — один из главных факторов риска атеросклероза. ЛПНП становятся атерогенными только после определенных превращений, например при перекисном окислении. Окисленные частицы захватываются макрофагами, которые после этого превращаются в ксантомные клетки, нагруженные эфирами холестерина.

ЛПВП синтезируются в печени и кишечнике и содержат эфиры холестерина и фосфолипиды. Более 90% апопротеинов ЛПВП представлено разными подтипами апопротеина А. Важнейшая функция ЛПВП — удаление холестерина из тканей. Высокоспецифичные рецепторы ЛПВП обнаружены на гладкомышечных клетках и фибробластах. Количество этих рецепторов увеличивается при повышении концентрации холестерина в клетке. Связывание частиц с рецепторами вызывает выброс холестерина из клеток. Первоначально холестерин встраивается в оболочку ЛПВП, но затем под действием лецитинхолестеринацилтрансферазы он этерифицируется и перемещается в их сердцевину. В печени ЛПВП связываются с рецепторами и разрушаются. Таким образом, ЛПВП рассматриваются как антиатерогенные липопротеины.

Липопротеин (а) содержит апопротеин В100, связанный дисульфидной связью с сильно гликозилированным белком —

апопротеином (а). Липопротеин (а) по плотности (1,05–1,12) занимает промежуточное положение между ЛПНП и ЛПВП. По структуре апопротеин (а) гомологичен плазминогену. Ген апопротеина (а) локализован на длинном плече 6-й хромосомы в непосредственной близости от гена плазминогена. Апопротеин (а) может участвовать в образовании плазмينا, чем и обусловлена его тромбогенность. Липопротеин (а) характеризуется высокой способностью взаимодействовать с белками клеточного матрикса (фибронектин, протеогликаны) сосудистой стенки. Измерение уровня липопротеина (а) позволяет оценивать тяжесть и прогнозировать течение сердечно-сосудистых заболеваний у больных с одинаковым содержанием холестерина ЛПНП. Концентрацию липопротеина (а) более 25–30 мг считают повышенной.

Апопротеины и рецепторы липопротеинов

Апопротеины поддерживают структурную целостность липопротеинов, участвуют в процессах обмена между ними и отвечают за взаимодействие липопротеинов с рецепторами. За последние 10 лет расшифрованы гены апопротеинов AI, AII, AIV, B48, B100, CI, CII, CIII, D, E, (а) и выяснены основные функции этих апопротеинов (табл. 9.2).

Апопротеин B100 — основной белковый компонент ЛПОНП, ЛППП и ЛПНП, образующихся в печени. Апопротеин B100 служит лигандом рецептора ЛПНП (апопротеин В-, Е-рецептор). Апопротеин B48 — фрагмент апопротеина B100, главный апопротеин хиломикронов и их остаточных компонентов. Апопротеин B48 синтезируется в кишечнике. Апопротеин В-, Е-рецепторы не распознают апопротеин B48, поэтому остаточные компоненты ХМ удаляются из крови в печени с помощью рецептора апопротеина Е.

Апопротеин Е входит в состав ЛПОНП, ЛППП, ЛПВП и остаточных компонентов хиломикронов, обеспечивает связывание этих липопротеинов с апопротеин В-, Е-рецепторами, а также с рецепторами апопротеина Е. Сродство апопротеин В-, Е-рецепторов к апопротеин Е-содержащим липопротеинам в 20–25 раз выше, чем к апопротеин В-содержащим ЛПНП.

Т а б л и ц а 9.2

Свойства и функции апобелков

Апо-белок	Входит в состав	Место синтеза	Мол. масса, кДа	Функция	Концентрация в плазме, мг/л
AI	ЛПВП, хиломикроны	Тонкая кишка, печень	28,3	Активация ЛХАТ, транспорт липидов, лиганд для ЛПВП-рецептора	1000–1600
AII	ЛПВП, ЛПОНП	Тонкая кишка, печень	17,0	Структурный белок, лиганд для ЛПВП-рецептора	300–500
AIV	ЛПВП, ЛПОНП, хиломикроны	Тонкая кишка	46,0	Активация ЛХАТ, лиганд для ЛПВП-рецептора	150
B100	ЛПНП, ЛППП, ЛПОНП	Печень	549,0	Перенос липидов из печени, связывание с В-, Е-рецепторами	500–900
B48	Хиломикроны	Тонкая кишка	265,0	Перенос липидов из тонкой кишки	
CI	ЛПВП, ЛПОНП, хиломикроны	Печень	6,5	Активатор ЛХАТ	50–110
CII	ЛПВП, ЛПОНП, хиломикроны	Тонкая кишка, печень	8,8	Активатор липопротеинлипазы	20–80
CIII	ЛПВП, ЛПОНП, хиломикроны	Тонкая кишка, печень	8,9	Ингибитор активности липопротеинлипазы	40–80
D	ЛПВП	Печень	22,0	Активатор ЛХАТ	80–100
E	ЛПВП	Печень	34,0	Связывание с В-, Е-рецепторами	10–60
(a)	ЛП (a)	Печень	270,0–1000,0	Участие в фибринолизе	Менее 300

Известны три аллельных варианта гена апопротеина Е, кодирующие изоформы Е2, Е3 и Е4. Эти изоформы различаются по аминокислотному составу и по сродству к апопротеин В-, Е-рецепторов. Фенотип Е3/Е3 имеют 75% людей. У лиц с фенотипом Е2/Е2 высок риск тяжелой дисбеталипопротеинемии и атеросклероза. Распространенность атерогенного фенотипа Е2/Е2 среди населения составляет 1 : 100, однако семейная дисбеталипопротеинемия выявляется только у 1–2% людей с таким фенотипом. Описаны и другие атерогенные фенотипы. Например, полное отсутствие апопротеина Е приводит к накоп-

лению ЛПВП и остаточных компонентов хиломикронов и к развитию атеросклероза в молодом возрасте.

Апопротеины AI и AII — преобладающие белки в ЛПВП. Апопротеин AI является кофактором лецитинхолестеринацилтрансферазы, катализирующей этерификацию холестерина в ЛПВП, отвечает за связывание ЛПВП с клетками печени и тем самым участвует в удалении холестерина из крови. Апопротеин AII предположительно способствует связыванию липидов с апопротеином AI.

Апопротеины CI, CII и CIII содержатся преимущественно в хиломикронах и ЛПОНП, в ЛПВП они обнаруживаются в следовых количествах. Эти апопротеины подавляют захват ЛПВП и остаточных компонентов хиломикронов в печени. Апопротеин CII служит активатором липопротеинлипазы; у лиц с недостаточностью апопротеина CII отмечается тяжелая гипертриглицеридемия. Апопротеин CIII является ингибитором липопротеинлипазы.

Лабораторная диагностика нарушений липидного обмена

Программы и алгоритмы лабораторной диагностики нарушений липидного обмена

Лабораторная диагностика дислипидопроteinемий предполагает как скрининговые и диагностические исследования, так и мониторинг лечения липидснижающими препаратами.

В качестве одного из основных скрининговых показателей рассматривается содержание общего холестерина. В ходе скрининговых исследований определяют уровень холестерина у мужчин 35–65 лет и женщин 45–65 лет. В более раннем возрасте обследование проводят при подозрении на наследственный характер нарушений липидного обмена, а также при наличии факторов риска ИБС (курение, артериальная гипертензия, нарушение углеводного обмена, ожирение). Тактика при скрининговых исследованиях уровня холестерина представлена на рис. 9.1.

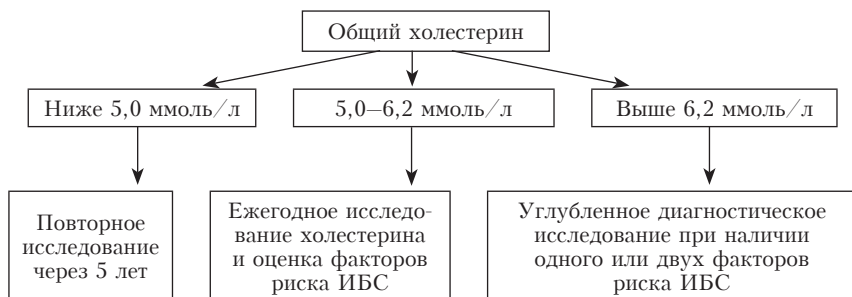


Рис. 9.1. Алгоритм исследований уровня холестерина

Стандартизация условий исследования липидного спектра

При проведении лабораторной диагностики нарушений липидного обмена необходимо учитывать существенное влияние ряда факторов преаналитического этапа на результаты лабораторного исследования, особенности биологической вариации аналитов, влияние лекарственных препаратов для предотвращения ошибочной трактовки результатов анализа. Рекомендации по преаналитической фазе при исследовании липидного спектра в сыворотке крови представлены в табл. 9.3.

Таблица 9.3

Факторы, влияющие на лабораторное исследование показателей липидного обмена

Этап	Особенности исследования
Подготовка	Кровь на исследование берется утром после 14–16 ч голодания. За неделю до взятия крови из рациона следует исключить жиры
Забор крови	Пробы крови следует брать в одном положении пациентов (лучше сидя). Нельзя допускать стаз крови
Хранение проб	Хранить пробы следует при температуре 0–4 °С не более 5 сут
Интерферирующие факторы	Точному определению мешает иктеричность проб и гемолиз. На значения параметров влияют прием алкоголя, диета, гепарин
Дополнительные замечания	В динамике наблюдения оценивать результаты исследования в одном типе пробы крови (капиллярная кровь, сыворотка, плазма). Однократное определение может быть непоказательным ввиду значительных индивидуальных колебаний уровня холестерина и его фракций, триглицеридов

Индивидуальные колебания показателей липидного обмена

Содержание в крови основных показателей состояния липидного обмена характеризуется значительной вариабильностью, это проявляется высокими показателями как внутри-, так и межиндивидуальной вариации (табл. 9.4). Различные типы диет, физические тренировки, потеря веса, бессонница, голодание более 6 дней, смена сезонов года — все это вызывает колебания холестерина, триглицеридов и холестерина ЛПНП и ЛПВП (ХС-ЛПНП, ХС-ЛПВП) в течение суток и изо дня в день.

Таблица 9.4

Пределы колебаний показателей липидного обмена, %

Показатель	Внутрииндивидуальная вариация		Межиндивидуальная вариация
	В течение суток	Изо дня в день	
Общий холестерин	±2,4	4,2–11,8	11,0–27,0
Холестерин ЛПВП	±3,5	4,1–9,1	27,0–38,0
Холестерин ЛПНП	±5,1	5,2–17,9	До 33,0
Триглицериды	15,3–31,0	8,0–45,0	27,8–46,0

Влияние лекарственных препаратов на показатели липидного обмена

Ряд лекарственных препаратов вызывает развитие или усугубляет уже имеющиеся нарушения метаболизма липидов. Это прежде всего относится к препаратам, используемым для лечения гипертонии и стенокардии. Наиболее существенное влияние на показатели липидного обмена оказывают тиазидовые диуретики и β-адреноблокаторы. Применение диуретиков вызывает увеличение содержания в крови ХС, ХС-ЛПНП, а также АпоВ, АпоАІ и повышение отношения АпоВ/АпоАІ. При лечении β-блокаторами в крови увеличивается содержание триглицеридов и АпоВ и снижается ХС-ЛПВП (табл. 9.5).

Таблица 9.5

Влияние лекарственных препаратов на показатели липидного обмена

Лекарственное средство	Общий холестерин	ХС-ЛПНП	ХС-ЛПВП	Триглицериды
Тиазиды	Возрастает	Возрастает	Варьирует	Возрастают
Фуросемид	Возрастает	Возрастает	Снижается	Возрастают

О к о н ч а н и е т а б л . 9.5

Лекарственное средство	Общий холестерин	ХС-ЛПНП	ХС-ЛПВП	Триглицериды
β-Адреноблокаторы	Возрастает	—	Снижается	Возрастают
Симпатолитики	Снижается	—	—	Снижаются
Инсулин	—	Снижается	Возрастает	Снижаются
Сульфаниламочевина	—	—	Возрастает	Снижаются
Бигуаниды	Снижается	—	—	Снижаются
Нереабсорбируемые аминогликозиды (неомицин, гентамицин)	Снижается	—	—	—
Ибупрофен	Возрастает	—	—	—
Эстрогены	Снижается	Снижается	—	Возрастают

Диагностика гиперхолестеринемии

Холестерин содержится как в ЛПНП, доставляющих холестерин в клетку и способствующих его накоплению в организме, так и в ЛПВП, выводящих холестерин от периферических тканей в печень с целью его дальнейшей элиминации из организма в виде желчных кислот.

Пул общего холестерина плазмы крови складывается из холестериннов основных классов ЛП:

$$\text{ХС сыворотки крови} = (\text{ХС-ЛПОНП}) + (\text{ХС-ЛПНП}) + (\text{ХС-ЛПВП}).$$

В настоящее время основным способом определения холестерина являются ферментативные методы, обладающие высокой чувствительностью и специфичностью. Кроме того, широкое распространение получают методы, реализованные на принципах «сухой химии».

Уровень общего холестерина следует определять у всех лиц старше 20 лет. В зависимости от концентрации общего холестерина обследуемых распределяют по группам (без учета возраста и других факторов риска ИБС):

- нормальный уровень общего холестерина (менее 5,0 ммоль/л);
- пограничный уровень (5,0–6,2 ммоль/л);
- повышенный уровень (более 6,2 ммоль/л).

Если уровень общего холестерина превышает 5,0 ммоль/л в сочетании с другими факторами риска ИБС, проводят повторное обследование.

Определение холестерина в ЛПНП

Самым распространенным способом определения ХС-ЛПНП в клинических лабораториях является расчетный на основе использования формулы Фридвальда:

$$\begin{aligned} \text{ХС-ЛПНП} &= \text{общий ХС} - \text{ХС-ЛПВП} - \text{ХС-ЛПОНП} \\ &\text{или} \\ \text{ХС-ЛПНП} &= \text{общий ХС} - (\text{ХС-ЛПВП} + \text{Tг}/2,2), \end{aligned}$$

где Тг — триглицериды.

В основе этой формулы лежат два допущения:

- 1) большая часть Тг плазмы находится в ЛПОНП;
- 2) весовое отношение Тг к холестерину в ЛПОНП составляет примерно 5 : 1.

Для ориентировочной оценки концентрации ХС-ЛПОНП используется величина Тг/2,2, если концентрация ХС и триглицеридов выражена в ммоль/л. Формула Фридвальда не дает точных результатов при III типе гиперлипопротеинемии (ГЛП) и выраженной гипертриглицеридемии (Тг > 4,5 ммоль/л).

Использование формулы Фридвальда для определения ХС-ЛПНП предъявляет повышенные требования к точности и воспроизводимости методов определения общего ХС, ХС-ЛПВП и Тг. Кроме того, уровень ХС-ЛПНП окажется заниженным, если кровь для исследования брать не натощак, так как в расчетах будут фигурировать завышенные значения триглицеридов.

Для оценки распределения липопротеинов у больных с высоким уровнем Тг и наличием значительного количества ХМ необходимо использовать современные методические подходы определения ХС-ЛПНП. В настоящее время для клинической практики предложены гомогенные методы определения ХС-ЛПНП, основанные на использовании различных детергентов и химических соединений, способных специфично блокировать и солюбилизировать классы ЛП для выделения ЛПНП.

Преимуществом гомогенных методов является возможность полной автоматизации исследования, позволяющая достичь необходимого уровня воспроизводимости при определении ЛПНП.

В зависимости от концентрации холестерина ЛПНП в крови обследуемых распределяют по группам:

- нормальный уровень холестерина ЛПНП (2,5–3,0 ммоль/л);
- пограничный уровень (3,1–3,5 ммоль/л);
- повышенный уровень (3,6–4,0 ммоль/л).

Определение холестерина в ЛПВП

Концентрацию ХС-ЛПВП определяют, используя методы преципитации. На первом этапе осаждаются ЛПОНП и ЛПНП добавлением преципитирующего агента, а затем в супернатанте определяют холестерин ЛПНП.

Фактором риска ИБС считают содержание холестерина ЛПВП менее 1 ммоль/л у мужчин и 1,2 ммоль/л — у женщин. Установлено, что отношение общего холестерина к холестерину ЛПВП более 4,5 — самый убедительный маркер высокого риска атеросклероза. Прогностическое значение низкого уровня холестерина ЛПВП на фоне такового в ЛПНП не выяснено.

Диагностика гипертриглицеридемии

В настоящее время наиболее обоснованным методическим подходом определения триглицеридов является использование ферментативных методов, обладающих наиболее высокой специфичностью и точностью, позволяющих избежать применения органических растворителей и трудоемких процедур исследования. Поскольку определение содержания триглицеридов основано на освобождении глицерина и определении его содержания в сыворотке крови, необходимо принимать во внимание возможные причины увеличения свободного глицерина в крови: острые инфекции, состояние стресса, прием препаратов с липолитическим действием. Накопление свободного глицерина происходит также при сахарном диабете, некоторых видах патологии пече-

ни, в условиях гемодиализа, при острой и хронической почечной недостаточности, приеме нитроглицерина, терапии гепарином.

В зависимости от уровня триглицеридов обследуемые лица распределяются в следующие группы:

- норма (менее 1,7 ммоль/л);
- пограничные значения (1,7–2,24 ммоль/л);
- умеренная гипертриглицеридемия (более 2,24–5,64 ммоль/л);
- тяжелая гипертриглицеридемия (более 5,64 ммоль/л).

Хельсинкское проспективное исследование эффективности первичной профилактики ИБС и аналогичное исследование в Мюнстере (ФРГ) показали, что избыток богатых триглицеридами липопротеинов является независимым фактором риска развития атеросклероза.

Визуальная оценка плазмы позволяет ориентировочно определить содержание в ней триглицеридов и выявить наличие ХМ. Если плазма крови прозрачная, уровень триглицеридов в ней не превышает 2,2 ммоль/л. Выраженная опалесценция плазмы характерна для гипертриглицеридемии порядка 3–6 ммоль/л, при уровне Тг, превышающем 6 ммоль/л, плазма или сыворотка крови уже не прозрачны. Чтобы выявить ХМ, плазму выдерживают в течение нескольких часов при температуре 4 °С. Хиломикроны образуют поверхностный слой. Избыток ХМ может обнаруживаться и в плазме крови здоровых людей, если кровь была взята не натощак (особенно после приема пищи, богатой триглицеридами). Наличие ХМ в крови можно выявить при проведении теста стояния: на основании появления «крема» на поверхности плазмы при выдерживании в течение 16 ч при температуре 4 °С. Присутствие хиломикронов часто бывает связано с тем, что проба взята не натощак. Прозрачная сыворотка крови и наличие ХМ свидетельствуют о I типе ГЛП, отсутствие их при выраженной опалесценции или молочном цвете сыворотки указывает на IV тип ГЛП; присутствие ХМ на поверхности образца сыворотки с выраженной опалесценцией или молочного цвета позволяет предположить наличие у пациента III или V типа ГЛП. Образцы крови от пациентов с гиперхолестеринемией почти прозрачны, но могут иметь оранжевую окраску.

Определение содержания апопротеинов

В настоящее время идентифицировано и охарактеризовано 14 типов апобелков. Однако, в лабораторной практике в основном определяют уровень АпоА1- и АпоВ-белков. В ряде исследований используется апопротеиновый коэффициент атерогенности, вычисляемый на основе определения содержания этих белков:

$$K = \text{АпоВ} / \text{АпоА}.$$

Апопротеиновый коэффициент в норме не превышает 0,9 и имеет клиническое значение для подтверждения диагноза ИБС у пациентов без признаков дислипопроteinемии (ДЛП).

Диагностика дислипопроteinемий

Наиболее интегральным индикатором нарушения метаболизма липопроteinов выступает ДЛП. Те или иные варианты дисбаланса липопроteinового спектра крови свидетельствуют о различной степени риска формирования атеросклероза у конкретного пациента. Выявление и детальный анализ (фенотипирование) дислипопроteinемий составляет основу лабораторной диагностики ранних стадий атеросклеротического поражения. Характер патологического процесса при ДЛП зависит от того, содержание каких липопроteinов в плазме увеличено.

Классификация типов дислипопроteinемий

В 1967 г. D.S. Fredrickson, R.I. Levy, R.S. Lees предложили классификацию гиперлипопроteinемий, основанную на результатах определения уровней общего холестерина и триглицеридов, а также на данных электрофореза и ультрацентрифугирования липопроteinов плазмы крови. Уровни общего холестерина и триглицеридов считали ненормальными, если они превышали 90 перцентиль среди населения. Fredrickson и соавт. описали пять типов ДЛП, для каждого из которых характерен определенный фенотип липопроteinов (подвижность при электрофорезе, количественные соотношения разных липопроteinов) (табл. 9.6, 9.7).

Т а б л и ц а 9.6

Общая характеристика дислипопroteinемий

Тип ДЛП	Распространенность	Класс ЛП	Липиды сыворотки крови		Внешний вид плазмы
			ХС	Тг	
I	Менее 1%	ХМ	Норма или +	++	Сливкообразный слой над слегка прозрачной или мутной плазмой
IIa	10%	ЛПНП	++	Норма или +	Прозрачная плазма, может быть желто-оранжевого оттенка
IIб	40%	ЛПНП ЛПОНП	++	+	Слегка или умеренно мутная
III	Менее 1%	Флотирующие β-ЛП	++	++	От опалесцирующей до очень мутной, иногда наблюдается сливкообразный слой на опалесцирующей плазме
IV	45%	ЛПОНП	Норма или +	++	От опалесцирующей до очень мутной
V	5%	ХМ и ЛПОНП	Норма или +	++	Сливкообразный слой над мутной или опалесцирующей плазмой

Примечание. + – пограничный уровень; ++ – повышенный уровень.

Т а б л и ц а 9.7

Сопоставление фенотипа дислипопroteinемии с клинико-инструментальными проявлениями

Тип ДЛП	Класс ЛП	Степень поражения атеросклерозом	Липиды сыворотки крови		Клинические синдромы и проявления
			ХС	Тг	
I	ХМ	Не встречается	Норма или +	++	Липемическая ретинопатия. Приступы абдоминальной колики. Увеличение печени и селезенки
IIa	ЛПНП	Резко выражен	++	Норма, + или ++	ИБС, ранняя дистрофия роговицы, снижение толерантности к глюкозе
IIб	ЛПНП ЛПОНП	Резко выражен	++	+	ИБС, инфаркт миокарда (до 30 лет), диабет, ксантома
III	«Флотирующие» β-ЛП	Резко выражен	++	++	Ожирение, ИБС, дистрофия роговицы, диабет, атеросклероз сосудов нижних конечностей
IV	ЛПОНП	Часто наблюдается, проявляется у взрослых	Норма или +	++	Увеличение печени, селезенки, диабет, панкреатит, ИБС, склероз периферических сосудов. Развивается медленно

Окончание табл. 9.7

Тип ДЛП	Класс ЛП	Степень поражения атеросклерозом	Липиды сыворотки крови		Клинические синдромы и проявления
			ХС	Тг	
V	ХМ и ЛПОНП	Может про- являться у взрослых	Норма или +	++	Атеросклероз мезентери- альных сосудов, увеличе- ние печени и селезенки, диабет, ожирение, ИБС (редко)

Примечание. + — пограничный уровень; ++ — повышенный уровень.

В представленной классификации не принимаются во внимание первичные (генетически предопределенные) и вторичные (обусловленные как ответ на факторы окружающей среды или на основное заболевание) причины нарушений.

Также в классификации не учитывается уровень холестерина ЛПВП, хотя его содержание существенно влияет на вероятность развития ИБС. Тип ГЛП у пациента может измениться с одного вида на другой под влиянием диеты, изменения массы тела и лечения. Вместе с тем система фенотипирования позволила искать рациональные подходы к диагностике ГЛП и их лечению.

Лабораторные методы фенотипирования дислипотеинемий

В настоящее время в лабораторной практике наиболее часто используются косвенные методы определения классов липопротеинов, наиболее доступным из которых является оценка липопротеинов по соотношению холестерина и триглицеридов в них. На рис. 9.2 приведен алгоритм фенотипирования ДЛП по результатам определения холестерина и триглицеридов в крови в сочетании с визуальным осмотром сыворотки при экспозиции 18–24 ч при температуре 0–4 °С.

Тип ГЛП можно определить и по данным электрофореза липопротеинов с учетом концентрации в крови холестерина и триглицеридов. Электрофорез в агаровом геле, при котором разделение ЛП основывается на различии их подвижности в электрическом поле, является достаточно сложным и трудоемким и применяется преимущественно в научно-исследовательских целях, а также в сложных диагностических случаях.

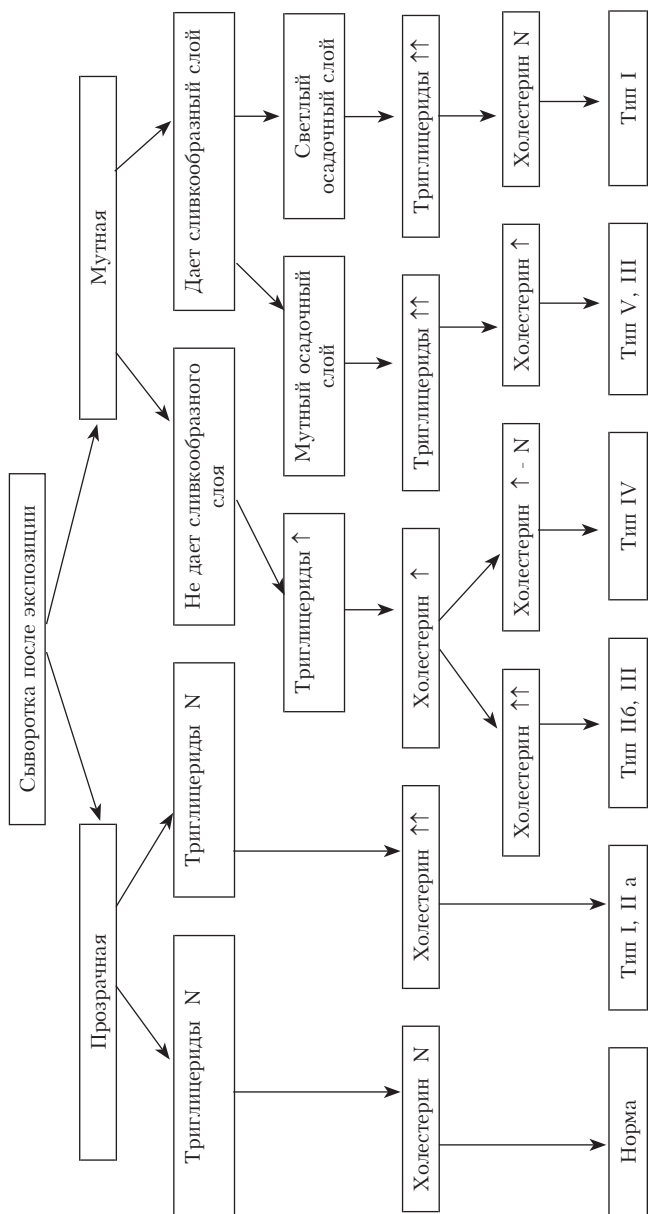


Рис. 9.2. Алгоритм фенотипирования дислипотеинемий по результатам определения общего холестерина и триглицеридов; N — показатель в пределах нормы; ↑ — умеренное увеличение; ↑↑ — значительное увеличение

На рис. 9.3 представлен алгоритм фенотипирования ДЛП на основе электрофореза липопротеинов плазмы крови.

Для оценки соотношения атерогенных и антиатерогенных липопротеинов используется предложенный А.Н. Климовым холестериновый коэффициент, или индекс атерогенности (ИА), рассчитываемый на основании формулы

$$\text{ИА} = \frac{\text{общий ХС} - \text{ХС-ЛПВП}}{\text{ХС-ЛПВП}}$$

Индекс атерогенности является идеальным у новорожденных (не более 1), к 25–30 годам достигает примерно 2,5 у здоровых мужчин и 2,2 – у здоровых женщин. У мужчин 40–60 лет без клинических проявлений атеросклероза этот коэффициент составляет 3–3,5, у лиц с ИБС – больше 4, достигая нередко 5–6 ед. и более.

Дифференциальная диагностика первичных и вторичных дислипопропротеинемий

Дифференциальную диагностику проводят методом исключения всех состояний, для которых характерны вторичные ГЛП:

- сахарный диабет;
- нефротический синдром и иные формы поражения паренхимы почек;
- патология печени с явлениями холестаза, снижение в крови альбумина;
- наличие острой или хронической фазы воспалительного процесса;
- ожирение и дисфункции коркового слоя надпочечников с гиперпродукцией глюкокортикоидов;
- избыток или недостаток тиреоидных гормонов.

Комплексное лабораторное исследование и исключение вторичной ГЛП дает основание поставить диагноз первичной ГЛП и заниматься выяснением конкретных механизмов нарушения метаболизма ЛП.

Механизмы формирования первичной ГЛП могут быть выяснены только в специализированных лабораториях молекулярной биологии, которые имеют возможность определять:

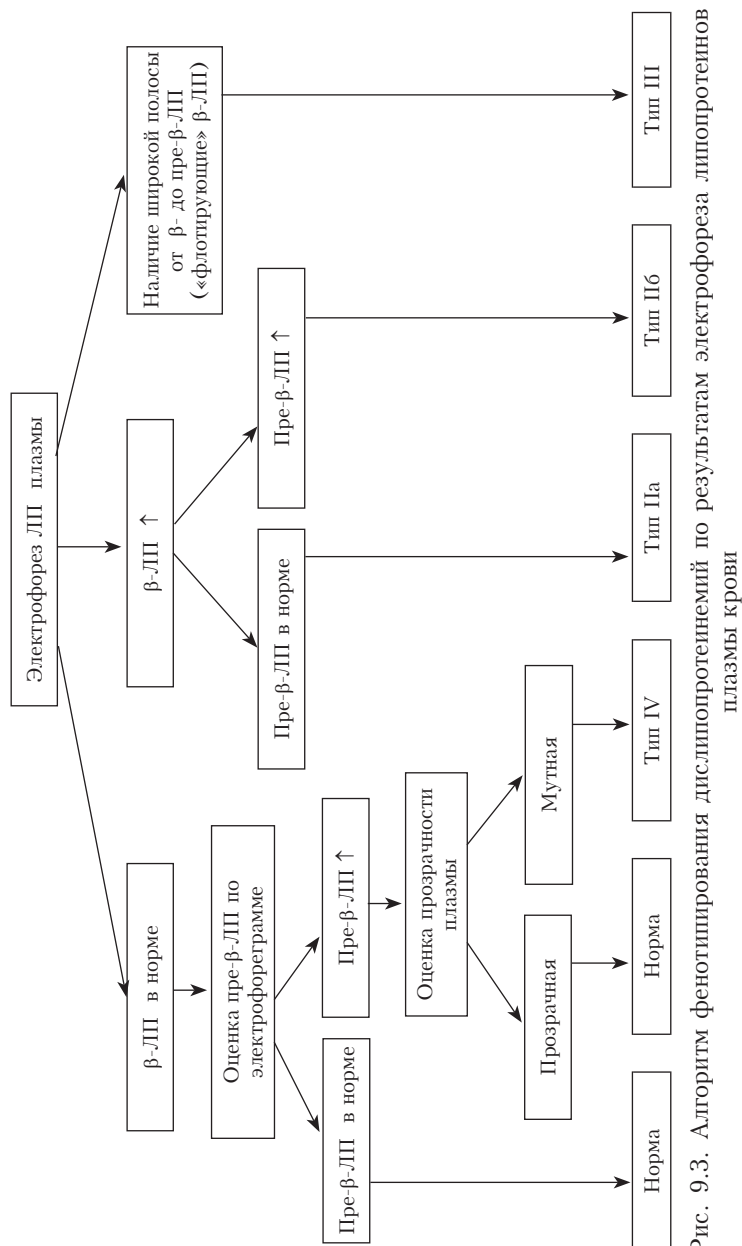


Рис. 9.3. Алгоритм фенотипирования дислипотеинемий по результатам электрофореза липопротеинов плазмы крови

- изоформы АпоЕ (Е2, Е3, Е4);
- содержание в крови отдельных форм апопротеинов А, В и С;
- уровень в крови белка, переносящего эфиры холестерина;
- состав жирных кислот сложных липидов;
- активность лецитин холецестинацилтрансферазы;
- перенос эфиров холестерина между ЛПВП и ЛППП.

Первичные гиперлипопротеинемии

В формировании первичных гиперлипопротеинемий основную роль играет наследственная предрасположенность. Среди множества наследственных аномалий обмена липидов точные биохимические дефекты установлены только для некоторых ГЛП.

Семейная гиперхолестеринемия (гиперлипопротеинемия типа II) связана с мутацией гена апопротеин В-, Е-рецептора (рецептор ЛПНП). Тип наследования — аутомомно-доминант-ный. Сниженное содержание, отсутствие или функциональный дефект рецептора приводят к нарушению захвата ЛПНП в печени и нерегулируемому накоплению холестерина в разных тканях, в том числе в эндотелии. Атеросклероз развивается в молодом возрасте; тяжесть заболевания зависит от числа аллелей мутантного гена. Уровень общего холестерина обычно находится в пределах 7,8–10,5 ммоль/л. Характерными симптомами считаются липоидная дуга роговицы и сухожильные ксантомы. Клинические и биохимические проявления наблюдаются у половины родственников первой степени. Наиболее распространена гетерозиготная форма семейной гиперхолестеринемии (1 : 500). Гомозиготная форма встречается очень редко (1 : 1 млн). Уровень общего холестерина у гомозиготных больных превышает 13 ммоль/л, а ИБС проявляется в первые 20 лет жизни.

Семейный дефект апопротеина В100. Заболевание обусловлено мутацией гена апопротеина В100 — лиганда рецептора ЛПНП, в результате чего значительно повышается концентрация ЛПНП. Уровень общего холестерина повышен умеренно. Семейный дефект апопротеина В100 встречается с той же частотой, что и семейная гиперхолестеринемия.

Семейная дисбеталипопротеинемия (гиперлипопротеинемия типа III) — редкое заболевание, характеризующееся увеличенной концентрацией ЛППП и остаточных компонентов хиломикрон в плазме и повышенным содержанием эфиров холестерина и апопротеина Е в ЛПОНП.

У большинства больных имеется мутация аллеля, кодирующего изоформу Е3 апопротеина Е. Из-за дефекта апопротеина Е3 снижается связывание апопротеин Е-содержащих липопротеинов с рецепторами, распознающими апопротеин Е. У людей с фенотипом Е2/Е2 высок риск атеросклероза. Распространенность фенотипа Е2/Е2 среди европейского населения равна 1 : 100, но только у 1–2% из его носителей отмечается семейная дисбеталипопротеинемия. Риск заболевания значительно повышается при ожирении, сахарном диабете, гипотиреозе и сопутствующих наследственных нарушениях обмена липидов. Диагноз подтверждают путем ультрацентрифугирования и анализа фракций ЛПОНП, богатых холестерином (отношение холестерина ЛПОНП и триглицеридов более 0,3). Другим критерием диагноза семейной дисбеталипопротеинемии служит примерно одинаковый прирост уровней общего холестерина и триглицеридов и наличие широкой полосы в зоне бета-фракции при электрофорезе на бумаге.

Семейная гипертриглицеринемия (гиперлипопротеинемия типа IV) может быть обусловлена разными генетическими дефектами. Генетическая гетерогенность семейной гипертриглицеринемии затрудняет ее оценку как фактора риска атеросклероза. Многие нарушения обмена веществ (в первую очередь сахарный диабет) приводят к вторичной гипертриглицеринемии. Содержание общего холестерина нормальное или умеренно повышенное и соответствует содержанию холестерина ЛПОНП. Содержание триглицеридов находится в пределах 2,9–8,7 ммоль/л. Уровень холестерина ЛПВП обычно ниже нормы и обратно пропорционален уровню триглицеридов. Гипертриглицеринемия усиливается при сопутствующих заболеваниях (ожирении, сахарном диабете, гипотиреозе, уремии, алкоголизме), на фоне вторичной инсулинорезистентности вследствие приема эстрогенов или пероральных контрацептивов, а также при лечении глюкокортикоидами.

Семейная гиперлипопротеинемия с фенотипом V. Основное проявление — тяжелая гипертриглицеринемия, обусловленная повышением концентрации хиломикронов и ЛПОНП. Уровень триглицеридов обычно превышает 11–20 ммоль/л под влиянием алкоголя, диеты, приема глюкокортикоидов, эстрогенов, а также при сопутствующих заболеваниях (ожирении, сахарном диабете). Отличительными клиническими признаками семейной гиперлипопротеинемии с фенотипом V являются: гепатомегалия, спленомегалия, эруптивные ксантомы, липидная инфильтрация сосудов сетчатки, повторные приступы панкреатита.

Необходимо отметить, что описанные наследственные нарушения обмена ЛП не входят в классификацию Фредриксона.

Семейная гипоальфалипопroteinемия (изолированный дефицит ЛПВП) — самое распространенное заболевание из этой группы. Наследование — аутосомно-доминантное; генетический дефект неизвестен. Уровень холестерина ЛПВП снижен на 50% при нормальных уровнях ЛПНП и ЛПОНП. Характерно развитие атеросклероза в молодом возрасте.

Семейная гиперальфалипопroteinемия. В большинстве случаев этот синдром наследуется аутосомно-доминантно, но встречается и полигенная гиперальфалипопroteinемия. Уровень холестерина ЛПВП повышен, уровни ЛПНП и ЛПОНП нормальные. Продолжительность жизни у лиц с этим синдромом значительно больше, а риск атеросклероза гораздо ниже, чем среди населения.

Семейная гипобеталипопротеинемия наследуется аутосомно-рецессивно. Синдром обусловлен мутацией гена апопротеина В100. Уровни апопротеина В, ЛПНП и ЛПОНП в 2 раза ниже среднего уровня среди населения; отношение холестерина ЛПНП и холестерина ЛПВП также понижено. Гомозиготная форма семейной гипобеталипопротеинемии встречается очень редко и характеризуется высокой смертностью из-за нарушения всасывания жиров и поражения ЦНС.

В табл. 9.8 представлены количественные критерии фенотипирования перечисленных ДЛП по уровню содержания липидов и липопротеинов в плазме крови.

Т а б л и ц а 9.8

Критерии фенотипирования дислипопротейнемий по уровню содержания липидов и липопротеинов в плазме крови

Критерий	Норма	Тип ДЛП			
		Гипо-α	Гипер-α	Гипо-β	Гипер-α + гипо-β
ХС-ЛПНП (β-ХС)	≤5,05	≤5,05	≤5,05	<2,6	<2,6
ХС-ЛПВП (α-ХС)	≤1,95	<0,95	>1,95	≤1,95	>1,95
ТГ	≤2,25	≤2,25	≤2,25	≤2,25	≤2,25

Вторичные дислипопротейнемии

Вторичные дислипопротейнемии встречаются очень часто. Они могут быть вызваны заболеваниями, сопровождающимися нарушениями обмена веществ (ожирением, сахарным диабетом, алкоголизмом, гипотиреозом, болезнями почек и печени), либо обусловлены образом жизни (неправильным питанием, отсутствием физической нагрузки, курением, стрессами). Все перечисленные факторы усиливают клинические проявления первичных дислипопротейнемий. Выделяют вторичные гиперлипидемии с преимущественным повышением Тг и ХС (табл. 9.9).

Т а б л и ц а 9.9

Вторичные дислипопротейнемии

Причины ДЛП	
С преимущественным повышением ХС	С преимущественным повышением Тг
1. Диета с повышенным содержанием насыщенных жиров	1. Диета, богатая углеводами
2. Гипофункция щитовидной железы	2. Избыточное потребление алкоголя
3. Нефротический синдром	3. Ожирение
4. Первичный билиарный цирроз печени	4. Беременность
5. Холестаз	5. Сахарный диабет типа 2
6. Инсулинзависимый сахарный диабет	6. Хроническая почечная недостаточность
7. Моноклональная гаммапатия	7. Булимия
8. Синдром Иценко—Кушинга	8. Системная красная волчанка
9. Применение оральных контрацептивов	9. Применение β-блокаторов (неселективных), тиазидных диуретиков
10. Острая интермиттирующая порфирия	10. Применение глюкокортикоидов, тамоксифена

Оценка риска развития сердечно-сосудистых заболеваний

Лабораторные показатели липидного обмена наряду с другими, «нелипидными» факторами учитываются в формировании групп для профилактики сердечно-сосудистных заболеваний (ССЗ) и оценки риска их развития. Для этого была предложена новая европейская модель в рамках проекта SCORE (Systematic Coronary Risk Evaluation), проведенного в 12 странах Европы, в том числе и в России. В современной модели устанавливается риск развития не только ИБС, но и всех заболеваний, связанных с развитием атеросклероза; для определения риска используются такие факторы, как пол, возраст, курение, систолическое артериальное давление и общий холестерин; критерием высокого риска развития фатальных ССЗ служит величина, равная 5% и выше.

Разграничение больных по риску развития ССЗ (комитет экспертов ВНОК, 2004) предполагает выделение трех категорий (табл. 9.10).

В соответствии с Европейскими рекомендациями по профилактике сердечно-сосудистых заболеваний в клинической практике нормальными показателями липидного обмена считают значения, представленные в табл. 9.11.

Т а б л и ц а 9.10

Категории риска развития сердечно-сосудистой недостаточности

Категория	Описание
1	Больные с любыми клиническими проявлениями ИБС, с периферическим атеросклерозом, атеросклерозом мозговых артерий, аневризмой брюшного отдела аорты
2	Отсутствуют клинические признаки ССЗ, но существует высокий риск развития атеросклероза сосудов вследствие: а) наличия нескольких факторов риска, по которым 10-летний риск фатальных событий составляет не менее 5%; б) выраженного повышения одного из факторов риска: ХС более 8 ммоль/л; ХС-ЛПНП более 6 ммоль/л, АД более 180/110 мм рт. ст.; в) СД типа 2 или СД типа 1 с микроальбуминурией
3	Ближайшие родственники больных с ранним началом ССЗ (моложе 55 лет у мужчин, 65 лет — у женщин)

Таблица 9.11

Оптимальные значения липидных параметров сыворотки крови
(по данным Европейских рекомендаций, 2003)

Показатель	Норма 1		Норма 2*	
	ммоль/л	мг/дл	ммоль/л	мг/дл
ОХС	< 5	< 200	< 4, 5	< 175
ХС-ЛПНП	< 3	< 115	< 2,6	< 100
ХЛ-ЛПВП, муж.	> 1,0	> 40	> 1,0	> 40
жен.	> 1,2	> 46	> 1,2	> 46
Триглицериды	< 1,77	< 155	< 1,77	< 155

* Для больных ИБС, атеросклерозом периферических и сонных артерий, аневризмой брюшного отдела, СД типа 2.

На рис 9.4 представлен алгоритм определения риска развития атеросклероза.

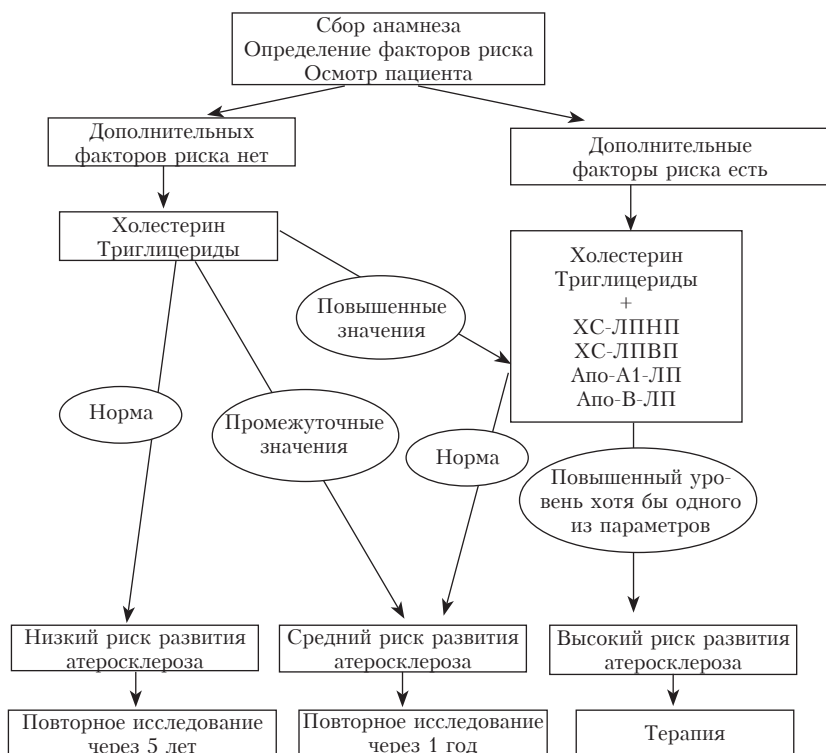


Рис. 9.4. Алгоритм определения риска развития атеросклероза

Принципы и цели лечения дислиппротеинемий

Риск развития атеросклероза и тяжесть ИБС уменьшаются при снижении концентрации липидов с помощью диеты или диеты в сочетании с лекарственными препаратами. Результаты многочисленных исследований подтверждают эффективность снижения уровня холестерина ЛПНП и повышения уровня холестерина ЛПВП при немедикаментозной и медикаментозной профилактике и терапии атеросклероза. В табл. 9.12 представлены значения холестерина ЛПНП, определяющие выбор вида липидснижающей терапии. Терапия ДЛП включает в себя немедикаментозные мероприятия по профилактике атеросклероза и назначение гиполипидемических препаратов. Основная цель этих воздействий — достижение оптимальных параметров липидного спектра пациента.

Снижение уровня холестерина ЛПНП на 1% уменьшает риск развития ИБС на 2%, а повышение уровня холестерина ЛПВП на 2% уменьшает риск ИБС еще на 2–3%.

Таблица 9.12

Значения ХС-ЛПНП для начала терапии у больных с различными категориями риска ССЗ

Категория риска	Уровень ХС-ЛПНП, ммоль/л		
	Для немедикаментозной терапии	Для медикаментозной терапии	Целевой
10-летний фактор риска (SCORE) более 5% (ИБС или ее эквиваленты)	Более 2,5	Более 3,0	Менее 2,5
2 фактора риска и более (10-летний фактор риска (SCORE) менее 5%)	Более 3,0	Более 3,5	Менее 3,0
0–1 фактор риска	Более 3,5	Более 4,0	Менее 3,0

Необходимо отметить, что проведение медикаментозной терапии также показано при концентрации триглицеридов более 2,9 ммоль/л в сочетании с повышенным уровнем холестерина ЛПНП, низким уровнем холестерина ЛПВП или другими значимыми факторами риска. При уровне триглицеридов более 5,8 ммоль/л назначают диету или лекарственные препараты для предотвращения панкреатита.

Немедикаментозная терапия дислипотеинемий

Немедикаментозная терапия предусматривает комплекс мероприятий, направленных на нормализацию или улучшение липидного обмена (диета, изменение образа жизни, устранение факторов риска).

В настоящее время многочисленными исследованиями доказано, что:

1) повышению уровня ХС-ЛПНП способствуют избыточное потребление насыщенных жиров и чрезмерная калорийность рациона;

2) гиподинамия приводит к снижению уровня ХС-ЛПВП и к избыточной массе тела, которая ассоциируется с гиперлипидемией (особенно с гипертриглицеринемией), как непосредственно, так и через нарушение толерантности к углеводам вплоть до развития сахарного диабета типа 2;

3) ожирение, особенно андроидное (с избыточным отложением жира на животе при худых бедрах и ягодицах), взаимосвязано с повышенной резистентностью к инсулину, гиперинсулинемией и атерогенными сдвигами липидограммы, в частности с высоким содержанием мелких плотных ЛПНП (нормальный 18,5–24,9 кг/м);

4) курение способствует снижению уровня ХС-ЛПВП примерно на 20%. Злоупотребление алкоголем является одной из причин повышения уровня триглицеридов, а в некоторых случаях провоцирует гиперлипидемию I и V типов с гиперхиломикронемией и высокой гипертриглицеридемией, что чревато развитием острого панкреатита;

5) широко распространенные сведения об антиатерогенном эффекте алкоголя, связанном с повышением уровня ХС-ЛПВП, касаются лишь его потребления в минимальных (до 150 мл вина в день) количествах практически здоровыми лицами.

Медикаментозная терапия дислипотеинемий

Проведение медикаментозной терапии нарушений липидного обмена основано на использовании различных видов лекарственных препаратов, объединенных в группу гиполипидемических средств. Выделяют следующие основные группы препаратов:

- 1) ингибиторы биосинтеза холестерина в печени (статины, никотиновая кислота);
- 2) препараты, усиливающие выведение холестерина из организма (секвестранты желчных кислот, фибраты);
- 3) омега-3-полиненасыщенные жирные кислоты.

Никотиновая кислота (НК).

Механизм действия НК — угнетение синтеза в печени ЛПОНП, а также уменьшение высвобождения из адипоцитов свободных жирных кислот, из которых синтезируются ЛПОНП с вторичным уменьшением образования ЛПНП; уменьшение содержания Тг на 20–50%; снижение уровня ХС оказывается не столь значительным (10–25%); существенной особенностью НК является ее способность повышать уровень ХС-ЛПВП на 15–30% за счет уменьшения катаболизма ЛПВП и основного апопротеина АпоАI; благоприятное влияние НК на основные показатели липидного спектра позволяет использовать ее при ГЛП IIa, IIb и IV типов.

Статины.

Гиполипидемический эффект статинов обусловлен угнетением активности ключевого фермента синтеза ХС — ГМГ-КоА-редуктазы. В результате снижения пула холестерина в печени повышается активность В-, Е-рецепторов гепатоцитов, которые осуществляют захват из крови циркулирующих ЛПНП и в меньшей степени ЛПОНП и ЛППП. Концентрации в крови ЛПНП и ХС значительно уменьшаются (на 20–50%). Умеренно снижается содержание ЛПОНП и Тг — на 10–20% Уровень ХС-ЛПВП повышается на 5–10%.

Особенность терапевтического воздействия статинов заключается в том, что выявлены их положительные эффекты, не связанные с гиполипидемическим действием:

1) статины благотворно влияют на миграцию и функциональное состояние макрофагов, а также на миграцию и пролиферацию гладкомышечных клеток в сосудистой стенке, улучшая тем самым ее биомеханические и гистохимические характеристики;

2) инактивируя макрофаги, статины уменьшают продукцию в них металлопротеаз и провоспалительных цитокинов, разрых-

ляющих покрышку атеросклеротической бляшки и тем самым дестабилизирующих ее;

3) снижается риск разрыва бляшки и внутрисосудистого тромбообразования. Угнетение миграции и пролиферации гладкомышечных клеток приводит к уменьшению потенциального объема атеромы;

4) обладают антикоагулянтным действием: снижают уровень фибриногена плазмы, ингибируют АДФ-зависимую агрегацию тромбоцитов; угнетают продукцию тромбоксана; уменьшают концентрацию ингибитора тканевого активатора плазминогена.

Секвестранты желчных кислот (СЖК) (холестирамин и колестипол).

Полимеры (анионообменные смолы). Связывают ХС и желчные кислоты, которые синтезируются из ХС в печени. Около 97% желчных кислот реабсорбируются из просвета кишечника и по системе портальной вены попадают в печень, а затем вновь выделяются с желчью. Этот процесс называется энтерогепатической циркуляцией. СЖК разрывают энтерогепатическую циркуляцию, что приводит к дополнительному образованию желчных кислот и снижению пула холестерина в печени. Следствием этого является компенсаторное повышение активности В-, Е рецепторов, захватывающих ЛПНП, и понижение уровня ХС в крови. При терапии СЖК уровень общего ХС снижается на 10–15%, а ХС-ЛПНП — на 15–20%. Одновременно наблюдается небольшое (на 3–5%) повышение уровня ХС-ЛПВП. Умеренная гипертриглицеридемия (Тг более 2,3 ммоль/л) является относительным, а выраженная (Тг более 5,5 ммоль/л) — абсолютным противопоказанием к назначению СЖК.

Фибраты.

Усиливают катаболизм ЛПОНП благодаря повышению активности липопротеинлипазы. Имеет место также угнетение синтеза ЛПНП и усиление выведения ХС с желчью. Понижают уровень свободных жирных кислот в плазме крови. Благодаря преимущественному действию фибратов на метаболизм ЛПОНП их основным эффектом является снижение уровня Тг (на 20–50%). Уровень ХС и ХС-ЛПНП снижается на 10–15%.

Содержание ХС-ЛПВП несколько увеличивается. Изменяют качественный состав ЛП (гемфиброзил и безафибрат снижают концентрацию мелких плотных ЛПНП, уменьшая тем самым атерогенность этого класса ЛП). Однако клиническое значение данного эффекта не выяснено.

Препараты, содержащие омега-3-полиненасыщенные жирные кислоты (полиен, эйканол), угнетают синтез ТГ и ЛПОНП в печени. Активируют окисление жирных кислот в тканях. Снижают активность тромбосана А2.

Комбинированное применение гиполипидемических препаратов.

Варианты совместного применения гиполипидемических препаратов представлены в табл. 9.13. Комбинированная гиполипидемическая терапия противопоказана при заболеваниях почек.

Таблица 9.13

Варианты назначения гиполипидемических препаратов

Изменение показателей	Лекарственная комбинация
ХС увеличен, триглицериды более 2,3 ммоль/л	Статины + анионообменные смолы
	Статины + НК
	НК + анионообменные смолы
ХС увеличен, триглицериды – 2,3–4,5 ммоль/л	Статины + НК
	Статины + фибраты
	НК + фибраты
	НК + анионообменные смолы

Лабораторный контроль за лечением гиполипидемическими препаратами

Гиполипидемические препараты обычно переносятся хорошо. Осложнения со стороны желудочно-кишечного тракта наблюдаются у 5–10% больных и носят преходящий характер. Более серьезные побочные эффекты (нарушения функции печени, миопатии) наблюдаются с частотой 0,1%. На первом году лабораторный контроль гиполипидемической терапии проводится не реже 1 раза в 3 мес, впоследствии не реже 1 раза в 6 мес. В табл. 9.14 представлены побочные эффекты и лабораторные изменения при лечении препаратами разных групп.

**Побочные эффекты и лабораторные изменения
при лечении препаратами разных групп**

Препарат	Побочные эффекты	Лабораторные изменения
Секвестранты желчных кислот	Метеоризм, запоры, нарушение всасывания жирорастворимых витаминов и некоторых лекарственных средств	Усиление гипертриглицеридемии
Никотиновая кислота	Боли в животе, кожные аллергические реакции, приливы, чувство жара	Гипергликемия, гиперурикемия, увеличение активности трансаминаз
Фибраты	Боли в животе, обострение желчнокаменной болезни, миалгии, миопатии	Увеличение активности трансаминаз, креатинкиназы общей и креатинфосфокиназы-МВ, миоглобина
Статины	Боли в животе, запоры, диарея, миалгия, миопатия	Увеличение активности трансаминаз, креатинкиназы общей и креатинфосфокиназы-МВ

Повышение активности печеночных ферментов АСТ и АЛТ, а также активность креатинфосфокиназы не должно превышать верхнего предела нормы более чем в 3 раза.

Контрольные вопросы и задания

1. Какова роль апобелков в организации первичных частиц липопротеинов и их последующих превращениях?
2. Какие существуют особенности в преаналитической стадии исследования показателей липидного обмена?
3. Какой класс липопротеинов является наиболее атерогенным?
4. Низкий уровень каких липопротеинов является независимым фактором развития ИБС?
5. Какие изменения липидного состава крови характерны для гиперлипидемии типа IIb по классификации Фредриксона?
6. Какие группы лекарственных препаратов оказывают выраженные изменения в показателях липидного спектра?
7. Приведите алгоритм диагностики нарушений липидного обмена.
8. Что такое коэффициент атерогенности и как он определяется?

9. Как определяется уровень холестерина ЛПНП?
10. Каким изменениям подвергаются ЛПНП при длительной циркуляции в кровотоке?
11. Как делят больных по категориям риска развития сердечно-сосудистых заболеваний?
12. Какие целевые уровни ХС-ЛПНП выделяют для начала применения лекарственной терапии у больных с различными категориями риска сердечно-сосудистых заболеваний?
13. Опишите механизм действия статинов на липидный обмен.
14. Какие принципы лабораторного контроля при медикаментозном лечении нарушений липидного обмена вам известны?
15. Как часто у больных, принимающих статины, наблюдается значимое повышение активности трансаминаз?

Тесты для контроля знаний

1. При исследовании показателей липидного обмена обязательно соблюдение следующих требований:
 - а) кровь для исследования берется через 14–16 ч после приема пищи;
 - б) соблюдение привычного рациона в течение 2–3 сут до взятия крови на исследование;
 - в) исключение приема алкоголя накануне исследования;
 - г) ограничение интенсивных физических нагрузок.
2. Мутность сыворотки, взятой на исследование, обусловлена избытком:
 - а) холестерина;
 - б) жирных кислот;
 - в) альфа-холестерина;
 - г) триглицеридов.
3. В сыворотке крови после приема пищи обнаруживаются следующие классы липопротеинов:
 - а) ЛПНП;
 - б) ЛПВП;
 - в) хиломикроны;
 - г) ЛПОНП.

4. Для типирования гиперлипопротеинемии используются следующие показатели:

- а) альфа-холестерин;
- б) общий холестерин;
- в) триглицериды;
- г) спектр липопротеинов;
- д) апопротеины.

5. Атерогенными считаются липопротеины:

- а) ЛПОНП;
- б) ЛППП;
- в) ЛПНП;
- г) ЛПВП.

6. Физиологическая роль апопротеинов состоит в следующем:

- а) создание структурной целостности липопротеинов;
- б) обеспечение взаимодействия с рецепторами для ЛПВП и ЛПНП;

- в) активация процессов этерификации холестерина;
- г) участие в фибринолизе.

7. Основной функцией ЛПНП является:

- а) транспорт экзогенных триглицеридов;
- б) транспорт эндогенных триглицеридов;
- в) транспорт холестерина в клетки;
- г) транспорт холестерина из клеток.

8. Основными клиническими проявлениями и сопутствующими синдромами для дислипидемии типа IIa являются:

- а) увеличение печени и селезенки;
- б) резко выраженный атеросклероз;
- в) снижение толерантности к глюкозе;
- г) инфаркт миокарда в возрасте до 30 лет.

9. Основными клиническими проявлениями и сопутствующими синдромами для дислипидемии типа IIб являются:

- а) выраженный атеросклероз;
- б) ксантоматоз;
- в) панкреатит;
- г) инфаркт миокарда в возрасте до 30 лет;
- д) ожирение.

10. Основными клиническими проявлениями и сопутствующими синдромами для дислипидемии IV типа являются:

- а) увеличение печени, селезенки;
- б) склероз периферических сосудов;
- в) панкреатит;
- г) инфаркт миокарда в возрасте до 30 лет;
- д) ожирение.

11. Липоидозу артериальной стенки способствует:

- а) увеличение ЛПНП;
- б) увеличение ЛПОНП;
- в) снижение ЛПВП;
- г) образование окисленных форм ЛПНП;
- д) развитие асептического воспаления на поверхности эндотелия.

12. Вторичные дислипидемии обусловлены:

- а) нарушениями обмена веществ;
- б) хроническим алкоголизмом;
- в) повышенной продукцией эстрогенов;
- г) гепатитом;
- д) всеми перечисленными состояниями.

13. Увеличение холестерина у детей связано:

- а) с врожденной атрезией желчных путей;
- б) начальной фазой острого гепатита;
- в) неосложненной формой обтурационной желтухи;
- г) всеми перечисленными состояниями.

14. Лабораторными маркерами выявления побочного действия гиполипидемических препаратов (статинов) являются:

- а) креатинкиназа общая и ее изоферменты;
- б) трансаминазы;
- в) общий белок и белковые фракции;
- г) тест толерантности к глюкозе.

15. В качестве лекарственных препаратов, регулирующих процесс перекисного окисления липидов, используют:

- а) производные фиброевой кислоты;
- б) препараты из рыбьего жира;
- в) пробукол;
- г) никотиновую кислоту.

16. Показанием к проведению гиполипидемической терапии являются следующие лабораторные критерии:

- а) уровень холестерина ЛПНП превышает 3,4 ммоль/л;
- б) уровень общего холестерина более 6,5 ммоль/л;
- в) уровень триглицеридов выше 4,0 ммоль/л.

17. Лабораторный контроль состояния липидного обмена проводится с целью:

- а) оценки безопасности препарата по биохимическим показателям;
- б) уточнения дозы препарата;
- в) определения оптимального выбора препарата;
- г) всего перечисленного.

Ответы к тестовым заданиям

- | | |
|-----------------------|------------------------|
| 1 — а, б, в, г | 10 — б, в, д |
| 2 — г | 11 — а, в, г, д |
| 3 — в | 12 — д |
| 4 — б, в, г | 13 — г |
| 5 — б | 14 — а, б |
| 6 — а, б, в | 15 — в |
| 7 — в | 16 — а, б, в |
| 8 — а | 17 — а, б |
| 9 — г | |

Ситуационные задачи

Задача 1. Охарактеризуйте динамику лабораторных показателей исследования липидного спектра у пациентов с ИБС, не получавших медикаментозного лечения:

а)

Показатель	Единица измерения	Норма	Дата исследования		
			19.06.06	12.02.07	02.05.07
Холестерин	ммоль/л	<4,5	5,61	6,64	6,85
Триглицериды	ммоль/л	0,5–1,7	6,74	6,81	10,6
ХС-ЛПНП	ммоль/л	<2,5	—	—	—
ХС-ЛПВП	ммоль/л	>1,0	0,72	0,81	0,73
ХС-ЛПНП / ХС-ЛПВП	—	<2,5	—	—	—

6)

Показатель	Единица измерения	Норма	Дата исследования		
			20.05.05	12.03.07	16.05.07
Холестерин	ммоль/л	<4,5	6,09	5,84	5,82
Триглицериды	ммоль/л	0,5–1,7	5,42	2,88	2,57
ХС-ЛПНП	ммоль/л	<2,5	—	3,71	3,86
ХС-ЛПВП	ммоль/л	>1,0	0,69	0,81	0,78
ХС-ЛПНП / ХС-ЛПВП	—	<2,5	—	4,58	4,95

Задача 2. Определите тип гиперлипидемии (по уровню холестерина и триглицеридов) и охарактеризуйте динамику показателей на фоне медикаментозного лечения:

а)

Показатель	Единица измерения	Норма	Дата исследования			
			22.06.05	14.12.05	11.12.06	06.03.07
Холестерин	ммоль/л	<4,5	6,37	5,68	6,28	4,98
Триглицериды	ммоль/л	0,5–1,7	5,62	3,65	2,22	2,66
ХС-ЛПНП	ммоль/л	<2,5	—	3,17	4,38	2,87
ХС-ЛПВП	ммоль/л	>1,0	0,84	0,88	0,84	0,89
ХС-ЛПНП / ХС-ЛПВП	—	<2,5	—	3,77	4,98	3,22

б)

Показатель	Единица измерения	Норма	Дата исследования			
			06.12.05	17.02.06	20.04.06	10.01.07
Холестерин	ммоль/л	< 4,5	7,05	5,76	5,09	4,72
Триглицериды	ммоль/л	0,5–1,7	1,49	1,42	1,56	1,35
ХС-ЛПНП	ммоль/л	<2,5	5,24	3,97	3,16	2,88
ХС-ЛПВП	ммоль/л	>1,0	1,13	1,14	1,21	1,22
ХС-ЛПНП / ХС-ЛПВП	—	<2,5	4,63	3,48	2,62	2,36

в)

Показатель	Единица измерения	Норма	Дата исследования			
			16.12.05	09.02.06	23.05.06	09.10.06
Холестерин	ммоль/л	<4,5	5,46	5,39	4,7	3,71
Триглицериды	ммоль/л	0,5–1,7	1,54	1,35	1,45	1,02
ХС-ЛПНП	ммоль/л	<2,5	3,50	3,36	2,65	2,28
ХС-ЛПВП	ммоль/л	>1,0	1,25	1,41	1,38	0,96
ХС-ЛПНП / ХС-ЛПВП	—	<2,5	2,8	2,38	1,92	2,38

Задача 3. Оцените динамику изменения показателей исследования липидного спектра на фоне немедикаментозной терапии.

Показатель	Единица измерения	Норма	Обследование				
			Первичное	Через 3 мес	Через 6 мес	Через 9 мес	Через 1 год
Холестерин	ммоль/л	<4,5	6,38	5,28	5,31	6,08	6,47
Триглицериды	ммоль/л	0,5–1,7	1,77	2,37	2,11	2,54	3,36
ХС-ЛПНП	ммоль/л	<2,5	4,52	3,20	3,20	3,69	3,92
ХС-ЛПВП	ммоль/л	>1,0	1,05	0,99	1,14	1,22	1,01
ХС-ЛПНП / ХС-ЛПВП		<2,5	4,3	3,24	2,81	3,03	3,88

Литература

1. *Диагностика* и коррекция нарушений липидного обмена с целью профилактики и лечения атеросклероза. Российские рекомендации ВНОК. Москва, 2004. 36 с.
2. Долгов В.В., Титов В.Н., Творогова М.Г. Лабораторная диагностика нарушений липидного обмена: Пособие для врачей. М., 2000. 55 с.
3. Дудко В.А., Карнов Р.С. Атеросклероз сосудов сердца и головного мозга. Томск: STT, 2002. 416 с.
4. *Медицинская лабораторная диагностика* (программы и алгоритмы) / Под. ред. А.И. Карпищенко. СПб.: Интермедика, 2001. С. 9–36.
5. Перова Н.В. Новые Европейские рекомендации по профилактике сердечно-сосудистых заболеваний, обусловленных атеросклерозом // Кардиология. 2004. № 1. С. 76–82.
6. Творогова М.Г. Методы определения холестерина липопротеинов низкой плотности // Лабораторная медицина. 2006. № 8. С. 21–24.
7. Чазов Е.И., Климов А.Н. Липопротеиды, дислипидемии и атеросклероз. Л.: Медицина, 1984. 166 с.
8. Шевченко О.П., Праскурничий Е.А., Шевченко А.О. Метаболический синдром. М.: Триада-Х, 2004. 141 с.

Глава 10

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Аутоиммунными заболеваниями (АИЗ) страдает 5–7% населения земного шара, чаще они развиваются у женщин. Учитывая большую распространенность аутоиммунной патологии в популяции в целом и огромное количество больных с выраженной аутоиммунной компонентой (сахарный диабет 1 типа, остеопороз, анемии, различные дефекты развития, эндокринные нарушения и т.д.), можно говорить о высокой социальной значимости своевременной диагностики АИЗ.

Развитие АИЗ связано с реализацией реакций с участием аутоантител (антитела к собственным антигенам) и цитотоксических Т-лимфоцитов, направленных против собственных антигенов (АГ) организма. Установлено, что антитела (АТ) против собственных тканей имеются в невысоком титре приблизительно у 10% нормальной популяции и являются маркерами повреждения тканей в результате химического или иного воздействия, например, ишемического повреждения миокарда. При прекращении такого воздействия и удалении разрушенных тканей аутоантитела (аутоАТ), как правило, исчезают. Частота выявления неспецифических аутоАТ увеличивается с возрастом. Возникший аутоиммунный процесс — явление в значительной степени хроническое, приводящее к долговременному повреждению тканей, так как аутоиммунная реакция постоянно поддерживается тканевыми АГ. В настоящее время известно более 120 синдромов с аутоиммунной компонентой. Разнообразие клинических признаков данной патологии объясняется различиями в локализации, выраженности и механизмах повреждения собственных тканей и органов.

Пусковые механизмы возникновения АИЗ остаются еще до конца не изученными. В качестве причин называют иммунологические, генетические, вирусные, лекарственные и гормональные факторы, действующие по одиночке или в комбинации, во времени и пространстве. Механизм аутоиммунного разрушения клеток и тканей неотличим от того, который имеет место в условиях нормы при адаптивном иммунитете и включает как специфические иммуноглобулины различных классов, так и субпопуляции Т-клеток, способные реагировать на собственные АГ.

Условно в патогенезе АИЗ можно выделить индуктивную и эффекторную стадии. Индуктивный этап связан со срывом иммунологической толерантности к собственным АГ организма (рис. 10.1).

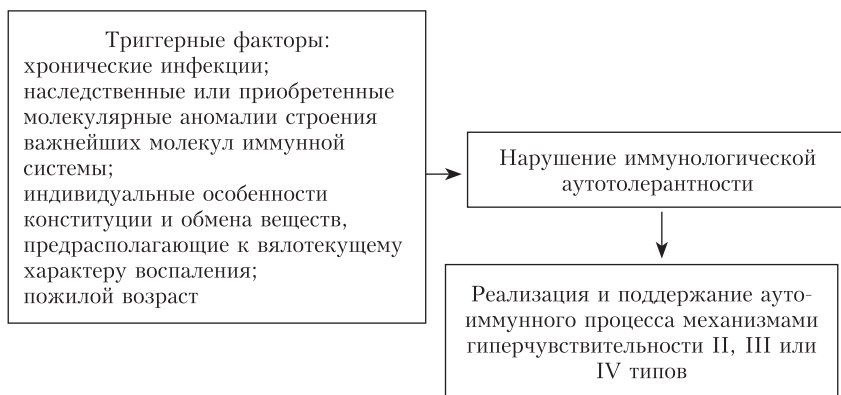


Рис. 10.1. Схема патогенеза аутоиммунных заболеваний

Этому могут способствовать проникновение патогенов с перекрестными АГ или поликлональными активаторами, сильный сдвиг цитокинового профиля в сторону Т-хелпер-1-пути, затяжной воспалительный процесс с выбросом большого числа медиаторов, которые могут модифицировать аутоАГ в очаге, и др. Существенная роль в патогенезе многих форм аутоиммунной патологии отводится хроническим вирусным, прионным и другим инфекциям, возбудители которых, вероятно, способны модифицировать процессы апоптоза и экспрессии важнейших иммунорегуляторных молекул. Одним из аспектов патогенеза

является наличие каких-либо молекулярных аномалий. Например, дефектные молекулы IgG образуют между собой конгломераты с сильными иммуногенными свойствами, которые индуцируют аутоиммунный процесс. Аутоиммунные болезни нередко развиваются в иммунологически привилегированных органах. К таким заболеваниям относятся рассеянный склероз, симпатическая офтальмия, иммунологическое бесплодие.

Эффекторная стадия любого аутоиммунного процесса протекает по одному или, что чаще, нескольким механизмам гиперчувствительности (по П. Джеллу и Р. Кумбсу, 1969) (рис. 10.1, табл. 10.1).

Таблица 10.1

Примеры аутоиммунных заболеваний (по данным Р.М. Хайтова и соавт., 2000)

Механизм повреждения тканей	Аутоиммунная патология
II тип гиперчувствительности опосредован антителами, связывающимися с поверхностью клеток или матриксным веществом соединительной ткани	Аутоиммунная гемолитическая анемия Аутоиммунная тромбоцитопеническая пурпура Синдром Гудпасчера Вульгарная пузырчатка Острая ревматическая лихорадка Пернициозная анемия Болезнь Грейвса Тиреоидит Хасимото Сахарный диабет типа 2 Миастения гравис Гранулематоз Вегенера
III тип опосредован растворимыми иммунными комплексами	Идиопатическая криоглобулинемия Системная красная волчанка Системные васкулиты
IV тип опосредован Т-эффекторами (Т-хелперы-1, цитотоксические лимфоциты)	Рассеянный склероз Ревматоидный артрит Синдром Шегрена

В современной отечественной литературе выделяется пять патогенетических классов АИЗ (табл. 10.2).

Таблица 10.2

Патогенетическая классификация аутоиммунных болезней (по данным В.В. Новицкого, 2001)

Класс		Механизм развития	Нозология
А: первичные аутоиммунные заболевания	Органо-специфические	Механизм развития связан с образованием аутоАТ против одного или группы компонентов какого-либо органа	Тиреоидит Хасимото Первичная микседема Тиреотоксикоз Атрофический гастрит Иммунное бесплодие

О к о н ч а н и е т а б л. 10.2

Класс		Механизм развития	Нозология
А: первичные аутоиммунные заболевания	Органо-специфические	(чаще всего это АГ, к которым естественная (врожденная) толерантность отсутствует)	Факогенный увеит Интерстициальный нефрит Увеит Пернициозная анемия Тромбоцитопения Нейтропения Гранулематоз Вегенера
	Органо-неспецифические	В основе лежит связывание аутоАТ с разными тканями организма; аутоАГ в данном случае не изолированы от контакта с иммунокомпетентными клетками	Системная красная волчанка Ревматоидный артрит Дерматомиозит Системная склеродермия Узелковый периартериит Рецидивирующий полихондрит Миастения гравис
	Смешанные	Включают оба ранее обозначенных механизма	Пемфигус Пемфигоид Первичный билиарный цирроз Аутоиммунный гепатит Синдром Шегрена Язвенный колит Синдром Гудпасчера Бронхиальная астма (аутоиммунная форма) Глютеиновая энтеропатия
В: вторичные аутоиммунные заболевания		Длительное воздействие внешних неблагоприятных факторов, которое приводит к модификациям аутоАГ	Ревматизм Болезнь Чагаса Лекарственные аутоиммунные реакции Анкилозирующий спондилоартрит Увеит
С: аутоиммунные болезни на основе генетических дефектов комплемента		Наследственные молекулярные аномалии системы комплемента, эффекторный этап патогенеза чаще реализуется по II типу	Волчаночноподобные синдромы Ангioneвротический отек
D: медленная вирусная и прионовая инфекции		Патогенез включает большинство вышеперечисленных механизмов, причинно-следственные связи которых до конца не установлены	Виллюйский энцефалит Рассеянный склероз Болезнь Альцгеймера Поствакцинальные реакции

Е: Сочетание классов А–D

Алгоритм лабораторной диагностики аутоиммунных заболеваний

Диагностика АИЗ основана на выявлении специфических аутоАТ, аутореактивных Т-лимфоцитов, признаков воспаления и др. (рис. 10.2).

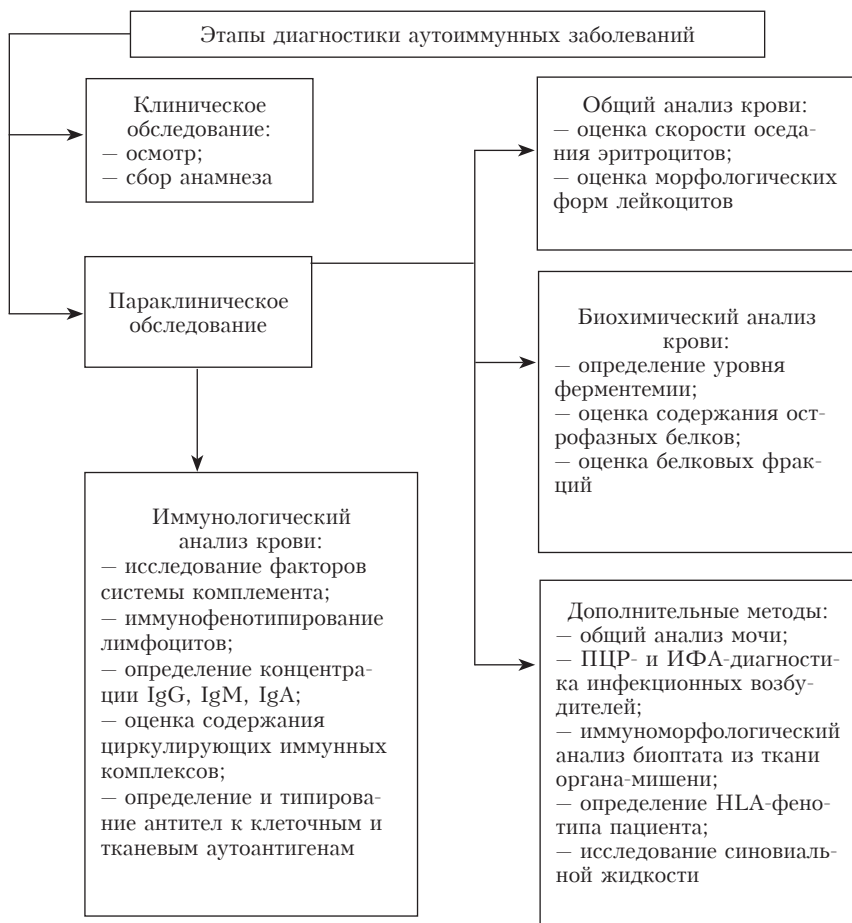


Рис. 10.2. Алгоритм лабораторной диагностики аутоиммунных заболеваний

Все АИЗ связаны с воспалительным ответом на повреждение ткани. Лабораторными маркерами воспаления являются повышение скорости оседания эритроцитов (СОЭ), уровня острофазных белков крови, активности ферментов в сыворотке крови (лактатдегидрогеназа, щелочная фосфатаза), показателей осадочных проб, лейко- и лимфоцитоз.

Определение СОЭ — один из наиболее простых лабораторных методов диагностики воспаления. При АИЗ динамическое измерение СОЭ позволяет определить стадию заболевания (обострение или ремиссия), оценить его активность и эффективность лечения. Ограничение диагностической значимости СОЭ обусловлено ее зависимостью от вязкости плазмы, количества и формы эритроцитов.

Анализом, альтернативным определению СОЭ, выступает измерение в крови уровня так называемых белков острой фазы, активность которых нарастает при воспалении. Основными из них являются альфа-1-антитрипсин, С-реактивный белок (СРБ), гаптоглобин, фибриноген, амилоид А, церулоплазмин. Для оценки воспалительной реакции наиболее простым и в то же время специфичным методом считается количественное определение СРБ (турбидиметрия, нефелометрия, ИФА, радиальная иммунодиффузия и т.д.). Уровень С-реактивного белка в течение суток может изменяться, поэтому его следует определять в динамике.

В целях дифференциальной диагностики на ранних этапах развития АИЗ, установления активности аутоиммунного процесса, выбора оптимальной тактики терапии и контроля за ее эффективностью показана оценка иммунного статуса (табл. 10.3).

Формирование циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) представляет собой физиологический механизм защиты, приводящий к быстрому устранению экзо- и эндогенных АГ. При АИЗ за счет различных нарушений создаются условия для персистенции ЦИК в высоких титрах. Патологическим следствием образования иммунных комплексов является их отложение в тканях-мишенях, приводящее к активации комплемента, формированию очага воспаления, что обуславливает повреждение почечных клубочков, сосудов, суставов. Определение ЦИК

в сыворотке — важный маркер для оценки активности и эффективности терапии АИЗ.

Таблица 10.3

Изменения иммунологических показателей при аутоиммунных заболеваниях
(по данным Х.Л.Ф. Каррея, 1990; Р.М. Хайтова и соавт., 2000;
Е.И. Змушко и соавт., 2001; Г.Н. Дранника, 2003)

Показатель	Ревматизм	Ревматоидный артрит	Системная красная волчанка	Склеродермия	Дерматомиозит	Синдром Шегрена	Синдром Шарпа	Анкилозирующий спондилит
Содержание циркулирующих иммунных комплексов	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑
Комплемент	↑	↓	↓	↓	↑↓	↓	↑↓	↑↓
Фагоцитоз	↓	↑↑	↓	↓	↑↓	↓	↓	↑↓
НСТ-поглощение	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	—
Содержание IgG	↑	↑—	↑	↑	↑	↑	↑	↑
Содержание IgA	↑	↑	↑	↑	↑	↑—	↑	↑
Содержание IgM	↑	—	—	↑	↑	↑	↑	—
Количество В-лимфоцитов	↓	↓	↑↓	↓	↓	↑	↓	—
Количество Т-лимфоцитов	↓	↓	↓	↓	↓	↑↓	↓	↓
Количество Т-супрессоров	↓	↓	↓	↓	↓	↑—	↓	—
Количество Т-хелперов	↑	↑	—	—	—	—	—	—
Количество НК-клеток	↑	↑	—	—	—	—	—	—
Антитела к инфектогену	↑	—	↑	—	—	—	—	—
Частота HLA-антигенов	↑	↑	↑	—	↑	↑	—	↑
Ревматоидный фактор	—	↑	—	—	—	↑	↑	—
Антитела к тканевым антигенам	↑	↑	↑	↑↓	↑	—	↑	—

Примечание: ↑ — повышено, ↓ — снижено, — — не изменено.

При образовании ЦИК расходуются факторы комплемента крови. Комплемент — это система термолabileльных сывороточных белков, каскадную активацию которой запускают иммунные комплексы (классический путь активации) или прямое расщепление компонента С3 (альтернативный путь активации). При активации комплемента (рис. 10.3) образуются: 1) медиаторы воспаления; 2) опсонины, связывающиеся с клетками-мишенями и облегчающие их фагоцитоз; 3) мембраноатакующий комплекс, разрушающий клетки-мишени.

Классический путь активации
комплемента

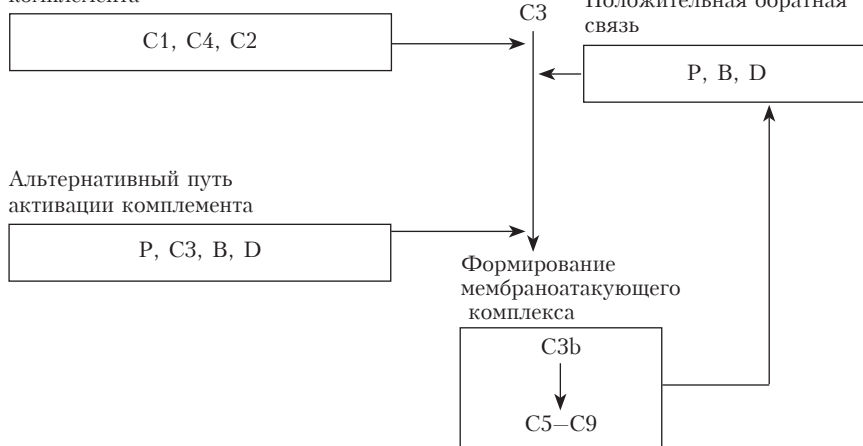


Рис. 10.3. Схема активации компонентов системы комплемента (по данным Г. Лолор и соавт., 2000)

Скорость разрушения и синтеза компонентов комплемента достаточно высока, поэтому обычно уже через 1–2 сут после активации комплемента иммунными комплексами его гемолитическая активность возвращается к норме. Снижение активности системы комплемента свидетельствует:

- 1) об активации комплемента, вызванной появлением большого количества иммунных комплексов;
- 2) о наследственной недостаточности комплемента.

Появление в сыворотке крови продуктов расщепления компонентов комплемента (C3a, C4a, фактора Ba) свидетельствует о ранних этапах его активации. Их определение позволяет судить о течении ревматоидного артрита, системной красной волчанки (СКВ), системной склеродермии и бактериальных инфекций.

Диагностическим иммунологическим маркером аутоиммунных болезней является обнаружение аутоантител или цитотоксических Т-лимфоцитов, направленных против антигена, ассоциированного с данным заболеванием. Исследование специфичности аутоантител позволяет провести дифференциальную диагностику АИЗ (табл. 10.4).

**Виды аутоантител и их основное диагностическое значение
при различных аутоиммунных заболеваниях (по данным В.А. Насонова, 1997)**

Аутоантитела	Заболевание	Методы определения антител
АТ к различным не-классифицированным антигенам клеточной поверхности: эритроцитов	Гемолитические анемии	Проба Кумбса, агглютинация при температуре 4 °С, гемолитические тесты
тромбоцитов	Тромбоцитопении	Реакции агглютинации, лизиса тромбоцитов, системы комплемента, ИФА
лейкоцитов	Лейко- и нейтропении, системные васкулиты, гранулематоз Вегенера	Лейкоагглютинация, иммунофлюоресценция, микроцитотоксический тест
лимфоцитов	Т- и В-лимфоцитопении	Микролимфоцитотоксический тест, угнетение Е-реакции розеткообразования, иммунофлюоресценция
миоцитов	Первичный билиарный цирроз, аутоиммунный гепатит, склеродермия	Иммунофлюоресценция
эпителиоцитов желез	Синдром Шегрена	Иммунофлюоресценция
АТ к клеточным рецепторам и дифференцировочным антигенам: тиреотропиновым	Тиреотоксикоз	Блокировка связывания меченого тиреотропного гормона
инсулиновым	Инсулинозависимый сахарный диабет	Блокировка (50%) связывания меченого инсулина
β_2 -адренергическим	Бронхиальная астма (аутоиммунная)	Блокировка связывания меченых β_2 -агонистов
допаминовым, ацетилхолиновым	Болезнь Паркинсона, миастения гравис	Блокировка связывания меченых лигандов
андрогеновым	СКВ	Блокировка связывания меченых лигандов
липопротеина низкой плотности	Гиперлиппротеинемии	Блокировка связывания меченых лигандов
Fc-рецепторам	СКВ	Блокировка Fc-рецепторов нейтрофилов и лимфоцитов
мембранному антигену гепатоцитов	Аутоиммунный гепатит	Реакции прямой гемагглютинации, преципитации, ИФА

Продолжение табл. 10.4

Аутоантитела	Заболевание	Методы определения антител
АТ к цитоплазматическим антигенам: рибосомальной РНК	СКВ	Иммунофлюоресценция, реакция преципитации
митохондриям	Первичный билиарный цирроз печени	Иммунофлюоресценция, реакции системы комплемента с гомогенатом печени и почки крыс, преципитация
микросомам	СКВ, синдром Шегрена	Иммунофлюоресценция, реакция прямой гемагглютинации
центромере	СКВ, системная склеродермия	Иммунофлюоресценция, реакция прямой гемагглютинации
цитоскелету	Аутоиммунный гепатит, СКВ	Иммунофлюоресценция, реакция прямой гемагглютинации
АТ к ядерным антигенам: нуклеопротейну (ДНП)	СКВ, ревматоидный артрит	Иммунофлюоресценция, наличие LE-клеток, реакции прямой гемагглютинации, латекс-агглютинации, системы комплемента, ИФА, иммуноблоттинг
ДНК нативной	СКВ	Иммунофлюоресценция, наличие LE-клеток, реакции прямой гемагглютинации, латекс-агглютинации, системы комплемента, ИФА
ДНК денатурированной, гистонам	СКВ, лекарственная волчанка, склеродермия	То же
Sm-антигену	СКВ	То же
рибонуклеопротейну	СКВ	То же
поли (АДФ)-рибозе	СКВ	То же
АТ к стромальным внеклеточным антигенам: базальных мембран	Синдром Гудпасчера, буллезный пемфигоид, пузырчатка	Иммунофлюоресценция, выявление C1-, C3- и C4-компонентов комплемента
волоконкам	Глютеиновая энтеропатия, герпетиформный дерматит Дюринга	Иммунофлюоресценция
коллагену типа II	Ревматоидный артрит, рецидивирующий полихондрит	Иммунофлюоресценция после удаления протеингликана из хряща, реакция прямой гемагглютинации
протеогликану	Полихондрит	То же
основному белку миелина	Рассеянный склероз	Реакции прямой гемагглютинации, системы комплемента, ИФА

Окончание табл. 10.4

Аутоантитела	Заболевание	Методы определения антител
АТ к иммуноглобулинам и их фрагментам: Fc-фрагменту иммуноглобулина (ревматоидный фактор) Fab ₂ -фрагменту денатурированному IgG	Ревматоидный артрит, синдром Шенгрена Ревматические болезни Ревматоидный артрит	Тесты агглютинации, ИФА, иммунофлюоресценция То же То же
АТ к различным растворимым антигенам: белку теплового шока HSP65 тиреоглобулину гормонам T ₃ и T ₄ щитовидной железы миозину фосфолипидам протромбину тромбопластину	Атеросклероз Тиреодит Хасимото, первичная микседема, тиреотоксикоз, синдром Шенгрена Тиреодит Хасимото, первичная микседема, тиреотоксикоз, синдром Шенгрена Полимйозит, аутоиммунный гепатит Антифосфолипидный синдром, СКВ СКВ СКВ	ИФА Реакции преципитации, прямой гемагглютинации, иммунофлюоресценция, ИФА Радиоиммуноэлекторофорез, ИФА То же То же То же То же
Антитела к межвидовым антигенам, кардиолипину	СКВ, СКВ-подобный синдром	Реакция Вассермана, ИФА

Общие критерии иммунологической диагностики АИЗ:

- наличие специфических аутоантител;
- наличие специфической клеточной сенсibilизации (реакция бласттрансформации и тест ингибирования миграции лейкоцитов в присутствии соответствующего аутоАГ);
- повышение уровня гамма-глобулина и (или) IgG;
- повышение индекса иммунореактивности;
- снижение содержания C3- и C4-компонентов комплемента;
- отложение иммунных комплексов в тканях-мишенях;

- лимфоидно-клеточная инфильтрация пораженных тканей;
- определение HLA-фенотипа.

Для многих аутоиммунных болезней установлена ассоциация между предрасположенностью к их формированию и генами HLA DR2/DR3. В табл. 10.5 представлены некоторые HLA-антигены, достоверно чаще встречающиеся при АИЗ.

Таблица 10.5

Антигены HLA, ассоциированные с аутоиммунными заболеваниями (по данным Г.Н. Дранника, 2003)

Аутоиммунные заболевания	HLA-антигены
Анкилозирующий спондилит	B27
Болезнь Бехчета	B5
Герпетиформный дерматит	DR3
Миастения гравис	DR3
Псориаз	DR7
Рассеянный склероз	DR2, DR4
Ревматоидный артрит	DR7, DR21
Синдром Гудпасчера	DR2
Синдром Рейтера	B27
СКВ	DR3, DR2
Тиреотоксикоз	DR3, DR5
Целиакия	B8, DR3, DR7
Ювенильный ревматоидный артрит	DR5

Лабораторно-диагностические критерии некоторых аутоиммунных заболеваний

Ревматоидный артрит

Ревматоидный артрит (РА) — системное хроническое аутоиммунное заболевание, характеризующееся развитием воспаления синовиальной оболочки. Клинически проявляется симметричным поражением мелких суставов рук и ног, сопровождающимся болью, припухлостью и скованностью по утрам.

Для установления диагноза ревматоидного артрита используют критерии, разработанные Американской ревматологической ассоциацией (1987):

- 1) утренняя скованность в течение 1 ч и более, сохраняющаяся около 6 нед;

- 2) увеличение объема трех и более суставов в течение 6 нед;
- 3) увеличение объема лучезапястных, пястно-фаланговых и проксимальных межфаланговых суставов в течение 6 нед;
- 4) симметричность поражения суставов;
- 5) типичные изменения, выявляемые при рентгенографии кистей: эрозии суставных поверхностей и остеопороз;
- 6) ревматоидные узелки;
- 7) наличие ревматоидного фактора в сыворотке крови.

Диагноз РА верифицируется при наличии не менее четырех из указанных признаков. Среди внесуставных проявлений заболевания наиболее часто наблюдаются:

- кровь: анемия, нейтропения, гипергаммаглобулинемия;
- кожа: ревматоидные узелки, васкулит;
- глаза: эписклерит, сухой кератоконъюнктивит;
- внутренние органы: перикардит, плеврит, гепато- и спленомегалия, лимфоаденопатия;
- нервная система: синдром carpal tunnel, ущемление спинномозговых корешков в шейном отделе;
- недомогание, снижение массы тела.

Наиболее важный лабораторный признак ревматоидного артрита — *ревматоидный фактор (РФ)*, который представляет собой аутоантитела к Fc-фрагменту IgG. В сыворотке ревматоидный фактор обычно присутствует в виде комплекса с IgG. Вместе с тем РФ не является специфическим для ревматоидного артрита, в низком титре (до 1 : 80) он определяется у 5% здоровых лиц моложе 60 лет. Более чем у 75% больных ревматоидным артритом титр РФ в реакции латекс-агглютинации превышает 1 : 80 (табл. 10.6). Титр РФ и его возникновение на ранней стадии болезни положительно коррелирует с тяжестью артрита и развитием системных проявлений.

Циркулирующие иммунные комплексы, состоящие из IgG, IgM, комплемента, α_2 -макроглобулина, обнаруживаются у 48–87% больных. В синовиальной жидкости чаще встречаются крупные иммунные комплексы, сильно активирующие комплемент, а в сыворотке крови — мелкие, обуславливающие развитие артериита и ситуаций, свойственных сывороточной болезни.

Т а б л и ц а 10.6

Аутоиммунные заболевания, сопровождающиеся повышением титра ревматоидного фактора в сыворотке крови

Аутоиммунное заболевание	Частота выявления ревматоидного фактора, %
Синдром Шегрена	90
Ревматоидный артрит	75
Полимнозит	50
СКВ	35
Эссенциальная смешанная криоглобулинемия	30
Ювенильный ревматоидный артрит	15
Анкилозирующий спондилит	5–10
Псориатический артрит	5–10

Примечание. Частота выявления РФ у здоровых лиц моложе 60 лет – 5%.

Анализ синовиальной жидкости проводят у всех больных с выпотом в полость сустава. Соблюдение правил асептики при проведении пункции позволяет снизить риск инфицирования сустава. Исследование синовиальной жидкости включает лабораторные показатели, представленные в табл. 10.7.

Прогностическими признаками тяжелого течения РА являются:

- пожилой возраст;
- женский пол;
- раннее вовлечение в воспалительный процесс большого количества суставов;
- высокие показатели С-реактивного белка и СОЭ;
- высокие титры ревматоидного фактора;
- наличие у пациента HLA-DR4 антигена.

Системная красная волчанка

Системная красная волчанка (СКВ) — хроническое аутоиммунное органонеспецифическое заболевание, которое характеризуется диффузным поражением соединительной ткани и сосудов, относится к группе так называемых больших коллагенозов. Наиболее частыми ранними признаками СКВ являются полиартрит, дерматит, также следует обратить внимание на хроническую усталость, перикардит, тромбоцитопению, анемию, лейко-, лимфопению, различные расстройства сознания.

Т а б л и ц а 10.7

Лабораторные показатели синовиальной жидкости

Степень выраженности воспаления	Внешний вид	Характер осадка при добавлении уксусной кислоты	Число лейкоцитов, мкл ⁻¹	Содержание белка, г/л	Содержание глобулы	Наиболее вероятный диагноз
Отсутствует	Прозрачная, желтоватая, вязкая	Плотный, цельный	Не более 2 000 (менее 25% из них — нейтрофилы)	<30	В норме	Травма, остеоартроз
Легкая	Слегка мутная	Рыхлый, распадается при встряхивании	2 000 — 5 000	>30	В норме	СКВ (в синовиальной жидкости методом иммунофлюоресценции иногда выявляются антиядермные антитела, может быть снижена гемолитическая активность комплемента)
Умеренная	Мутная	Фрагментированный	5 000 — 50 000 (более 50% из них — нейтрофилы)	>30	В норме или снижено	Подагра (в синовиальной жидкости содержатся кристаллы урата натрия). Ревматоидный артрит (в синовиальной жидкости иногда выявляется ревматоидный фактор, может быть снижена гемолитическая активность комплемента). Псевдоподагра (в синовиальной жидкости присутствуют кристаллы пирофосфата кальция)
Тяжелая	Гнойная, вязкая	Отсутствует	Более 50 000 (более 90% из них — нейтрофилы)	>30	<70% уровня в плазме	Инфекционный артрит (гемолитическая активность комплемента в норме или повышена, при окраске мазка по Грамму выявляются бактерии)

В последующем присоединяются признаки поражения почек и ЦНС.

Критерии диагностики СКВ, разработанные Американской ревматологической ассоциацией, включают 11 пунктов (табл. 10.8).

Таблица 10.8

Диагностические критерии СКВ (по данным Американской ревматологической ассоциации, 1982)

Критерий	Характеристика
Эритема в виде бабочки	Стойкая эритема (плоская или возвышенная) на скулах, обычно не захватывает носогубные складки
Дискоидная сыпь	Возвышающиеся бляшки с плотно сидящими чешуйками, закрывающими волосяные фолликулы, впоследствии замещаются атрофическими рубцами
Фотосенсибилизация	Сыпь, появляющаяся под действием солнечного света (по данным анамнеза или при осмотре)
Язвы слизистой рта и носоглотки	Обычно безболезненные (выявляются при осмотре)
Артрит	Без деформаций, поражение не менее двух суставов, проявляющееся увеличением их объема, болезненностью и выпотом
Серозит	Плеврит (боль в боку при дыхании или шум трения плевры при аускультации, плевральный выпот) или перикардит (изменения на ЭКГ или шум трения перикарда, перикардальный выпот)
Поражение почек	Стойкая протенинурия (более 0,5 г/сут) или цилиндрурия (эритроцитарные, гемоглобиновые, зернистые, эпителиальные и смешанные цилиндры)
Поражение ЦНС	Эпилептические припадки или психозы, не связанные с применением лекарственных средств и метаболическими нарушениями: уремии, кетоацидозом, электролитными нарушениями
Гематологические нарушения	Гемолитическая анемия с ретикулоцитозом или лейкопения (число лейкоцитов менее 4 000 мкл ⁻¹ при двух и более исследованиях крови) или лимфопения (число лимфоцитов менее 1 500 мкл ⁻¹ при двух и более исследованиях крови) или тромбоцитопения (число тромбоцитов не более 100 000 мкл ⁻¹), не связанная с приемом лекарственных средств
Иммунные нарушения	Наличие LE-клеток или антител к нДНК в сыворотке или антител к Sm-антигену или положительные нетрепонеменные реакции, сохраняющиеся в течение 6 мес при отрицательных результатах реакций иммунофлюоресценции — абсорбции и иммобилизации трепонем
Наличие антиядерных антител	Постоянно повышенный титр антиядерных антител, выявляемых методом иммунофлюоресценции, не связанный с приемом лекарственных средств, вызывающих лекарственный волчаночный синдром

Диагноз считается подтвержденным, если в течение любого периода наблюдения присутствуют не менее 4 из 11 критериев.

При лабораторном обследовании больного обнаруживаются различные гематологические, серологические и биохимические нарушения, которые являются прямым следствием заболевания, обусловлены его осложнениями или вторичны и связаны с лечением. Многие неспецифические показатели, например уровень иммуноглобулинов, компонентов комплемента, СОЭ, должны интерпретироваться в контексте с клинической картиной.

Одним из характерных лабораторных признаков СКВ является наличие в крови аутоантител, направленных к различным компонентам: ядерным, мембранным структурам клетки, сывороточным белкам. Доказано, что эти аутоАТ обладают прямым повреждающим действием на клетку, а также могут индуцировать дисрегуляционные изменения в системе иммунитета.

Антиядерные аутоАТ связываются с ядерными АГ и обнаруживаются более чем у 95% больных в течение 3 мес после начала заболевания. Основными способами определения антиядерных АТ, позволяющими проводить скрининговые исследования, считаются ИФА и непрямая иммунофлюоресценция. При использовании последнего метода самым ответственным моментом является установление характера флюоресценции. Описано более 40 типов флюоресцентного свечения ядра клетки, но в практической работе обычно используются шесть (табл. 10.9).

Таблица 10.9

Типы иммунофлюоресценции антиядерных аутоантител при различных заболеваниях

Характер иммунофлюоресценции	Тип антиядерных аутоантител	Заболевания
Гомогенное	ДНК, ДНП, гистон (H1, H2B, H3, H4)	Аутоиммунные ревматические болезни, лекарственная волчанка
Периферическое	Антитела к ядерной мембране	СКВ
Крупчатое	Sm, RNP, Ro, La, Jo-1	Смешанное заболевание соединительной ткани, реже другие аутоиммунные ревматические болезни

Окончание табл. 10.9

Характер иммунофлюоресценции	Тип антиядерных аутоантител	Заболевания
Сетчатое крапчатое	Scl-70	Системная склеродермия (диффузная форма)
Дискретное крапчатое	Антитела к центромере	CREST-синдром, реже синдром Рейно и другие аутоиммунные ревматические заболевания
Нуклеарное	РНК-полимераза, РМ/Scl, перирибосомальные частицы	Системная склеродермия (диффузная форма)

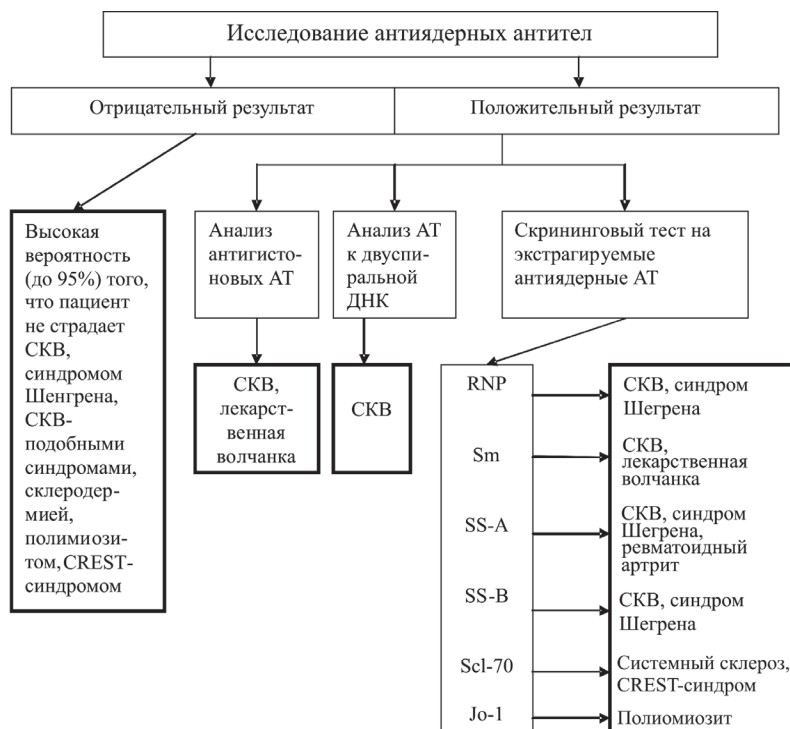


Рис. 10.4. Алгоритм диагностики системной красной волчанки и других аутоиммунных заболеваний на основе исследования антиядерных аутоантител: RNP — ядерный нуклеопротеин; Sm — антиген Смита; SS-A и SS-B — цитоплазматические нуклеопротеины; Scl-70 — ДНК-топоизомераза I; Jo-1 — антиген Джонса

Ранее о наличии антиядерных аутоАТ судили по обнаружению в крови, плевральном, перикардальном, перитонеальном выпоте, синовиальной и спинномозговой жидкости больных так называемых LE-клеток (lupus erythematosus cells — клетки красной волчанки). Они являются нейтрофилами или моноцитами, содержащими крупные гомогенные базофильные включения в виде фагоцитированных ядер разрушенных клеток, покрытых антиядерными антителами. Выявление LE-клеток — трудоемкий и малочувствительный тест, поэтому сейчас в лабораториях для диагностики СКВ и других аутоиммунных заболеваний используются более дешевые и воспроизводимые методы, основанные на определении антиядерных антител.

Необходимо учитывать, что ни одна из разновидностей антиядерных аутоАТ не выявляется у 100% больных. В связи с этим целесообразно применять для обследования комплекс методов, позволяющий с большей уверенностью решить диагностическую задачу. Наиболее надежные результаты при диагностике аутоиммунных патологий можно получить с использованием стратегии, представленной на рис. 10.4.

Вопрос о титрах, в которых определяются антиядерные АТ, сложен ввиду значительного варьирования разведения нормальных сывороток в разных лабораториях. Поэтому нужно придерживаться следующего правила: если титры АТ в сыворотке крови больных менее чем в 2 раза превышают таковые у здоровых лиц (в контроле), то полученные результаты следует считать сомнительными. Чем выше титр АТ, тем более высокой будет информативность их определения для постановки диагноза.

Приблизительно у 30% больных СКВ обнаруживаются антифосфолипидные АТ, которые являются причиной различного рода тромбоэмболических осложнений (инсульт, тромбоз полых вен, тромбофлебит, тромбоэмболия легочной артерии и др.). Наличие антифосфолипидных АТ может обусловить ложноположительный результат реакции Вассермана.

Системная склеродермия

Системная склеродермия (ССД) протекает как самостоятельное заболевание или перекрещивается с другими системными патологиями соединительной ткани. Наиболее характер-

ным клиническим признаком болезни является уплотнение и утолщение кожи. Затем развивается слабо выраженный полиартрит с поражением мелких суставов рук и ног. В дальнейшем часто отмечается распространение кожных изменений с вовлечением кожи лица, формирование патологии легких, сердца или почек.

Клиническая диагностика ССД основана на критериях, разработанных Американской ревматологической ассоциацией (1987):

1) симметричное утолщение и уплотнение кожи кистей и стоп, иногда распространяющееся проксимально по конечностям, на лицо, шею и туловище;

2) склеродактилия;

3) рубцовые изменения кожи пальцев или атрофия подушечек пальцев: участки втяжения ткани или атрофия подкожной клетчатки подушечек пальцев вследствие ишемии;

4) двусторонний пневмосклероз: на рентгенограммах грудной клетки выявляется двустороннее сетчатое или сетчато-узловое поражение, особенно выраженное в нижних отделах, могут наблюдаться множественные мелкие очаговые тени или картина «сотового легкого». На ранних стадиях заболевания рентгенологические признаки поражения легких отсутствуют.

Лабораторные признаки активной ССД включают:

- умеренное повышение СОЭ и содержания СРБ;
- появление ЦИК;
- наличие аутоАТ (антиядерные АТ — в 95% случаев, АТ к коллагену — 85–90%, ревматоидный фактор — 25%).

Среди антиядерных АТ более специфичными маркерами ССД являются антицентромерные и анти-Scl-70 аутоАТ.

Дифференциальная диагностика нозологических форм из группы так называемых системных заболеваний соединительной ткани сложна ввиду общности их клинических черт, отсутствия строго специфических лабораторно-диагностических маркеров. В табл. 10.10 представлены некоторые признаки, позволяющие различить ревматоидный артрит, системную красную волчанку и системную склеродермию.

Т а б л и ц а 10.10

Сравнительная характеристика лабораторных особенностей некоторых форм аутоиммунной патологии

Лабораторное исследование	Ревматоидный артрит	Системная красная волчанка	Системная склеродермия
Общий анализ крови	Умеренная нормоцитарная нормохромная анемия, лейкоцитоз, тромбоцитоз, повышение СОЭ	Лейкопения со сдвигом влево, тромбоцитопения, анемия гипохромная, гемолитическая	Гипохромная анемия, лейкоцитоз, повышение СОЭ
Общий анализ мочи	Без особенностей	При поражении почек — протеинурия, цилиндрuria, эритроцитурia	Без особенностей
Биохимический анализ крови	Повышение белков острой фазы, повышение уровня сиаловых кислот, снижение уровня сывороточного железа	Гипергаммаглобулинемия, повышение СРБ, фибриногена, уровня сиаловых кислот	Повышение содержания α_2 - и γ -глобулинов, белков острой фазы, оксипролина, сиаловых кислот, мукополисахаридов
Иммунологические исследования	Ревматоидный фактор — положительный, антиядерные антитела — положительные, повышение ЦИК, снижение С3а-, С4а-компонент системы комплемента	Высокий титр антиядерных антител, снижение Т-лимфоцитов, повышенный уровень Ig, ревматоидный фактор — положительный при поражении суставов	Ревматоидный фактор — положительный, антиядерные антитела — положительные, снижение Т-лимфоцитов, повышение уровня Ig
Дополнительные методы диагностики	Физико-химический, морфологический анализ синовиальной жидкости	Гистологическое исследование кожи, мышц и других тканей	Рентгенологическое исследование легких

Контрольные вопросы и задания

1. Понятие об аутоиммунных заболеваниях. Классификация аутоиммунных болезней.
2. Опишите триггерные факторы развития аутоиммунной патологии.
3. Патогенез органоспецифических аутоиммунных заболеваний.
4. Патогенез органонеспецифических аутоиммунных заболеваний.
5. Представьте алгоритм лабораторной диагностики аутоиммунных заболеваний.

6. Какова диагностическая значимость определения СОЭ?
7. Какова роль определения белков острой фазы в диагностическом алгоритме аутоиммунных заболеваний?
8. Дайте характеристику иммунологических сдвигов при аутоиммунной патологии.
9. Оцените диагностическую значимость определения компонентов системы комплемента.
10. Какое значение имеет определение циркулирующих иммунных комплексов для диагностики аутоиммунных заболеваний?
11. Понятие о ревматоидном факторе и его диагностическое значение.
12. Антинуклеарные антитела.
13. Какова диагностическая значимость определения типов аутоантител?
14. Каково значение исследования синовиальной жидкости в общем диагностическом алгоритме аутоиммунных заболеваний?
15. Представьте диагностические критерии ревматоидного артрита.
16. Оцените диагностические критерии СКВ.
17. Перечислите диагностические критерии системной склеродермии.
18. Дифференциальная диагностика различных нозологических форм системных аутоиммунных заболеваний.

Тесты для контроля знаний

1. Антитела участвуют в воспалении следующим образом:
 - а) связывают чужеродные микроорганизмы;
 - б) активизируют систему комплемента;
 - в) способствуют фагоцитозу;
 - г) все выше перечисленное верно.
2. В развитии воспалительного процесса комплемент:
 - а) образует мембраноатакующий комплекс;
 - б) активизирует хемотаксис;
 - в) повышает синтез анафилотоксина;
 - г) все выше перечисленное верно.
3. Признаками воспаления являются:
 - а) боль;

- б) отек;
 - в) геперемия;
 - г) эритема;
 - д) анемия.
4. К основным острофазным белкам относятся:
- а) хемотрипсин;
 - б) С-реактивный белок;
 - в) церулоплазмин;
 - г) амилоид А;
 - д) ферритин.
5. К органоспецифичным аутоиммунным заболеваниям не относятся:
- а) тиреоидит Хасимото;
 - б) ревматоидный артрит;
 - в) системная красная волчанка;
 - г) гранулематоз Вегенера.
6. Увеличение СОЭ может сопровождать:
- а) беременность;
 - б) повышенные физические нагрузки;
 - в) воспаление.
7. Антиядерные антитела образуются:
- а) к иммуноглобулинам класса А;
 - б) антигену Смита;
 - в) рибосомам;
 - г) тиреоглобулину.
8. Наличие антиядерных антител можно определить с помощью:
- а) проточной цитометрии;
 - б) иммуноферментного анализа;
 - в) иммунофлюоресценции;
 - г) полимеразной цепной реакции.
9. Симптомом системной красной волчанки не является:
- а) ревматоидные узелки;
 - б) наличие LE-клеток;
 - в) эритема в виде бабочки;
 - г) наличие ревматоидного фактора в сыворотке;
 - д) склеродактилия.

Ответы к тестовым заданиям

- | | |
|----------------|----------|
| 1 — г | 6 — а, в |
| 2 — г | 7 — б |
| 3 — а, б, в | 8 — б, в |
| 4 — б, в, г, д | 9 — а |
| 5 — б, в, г | |

Ситуационные задачи

Задача 1. У больной 35 лет через месяц после инсоляции появились кожный эритематоз на лице, субфебрилитет, артралгии, выпадение волос, похудание. При обследовании выявляются участки гиперемии кожи туловища и лица, умеренная лимфоаденопатия. Суставы не изменены. Печень и селезенка не увеличены.

В крови: гемоглобин — 80 г/л, лейкоциты — 3 г/л, СОЭ — 40 мм/ч. Антитела к ДНК (+) в титре 1 : 240, ревматоидный фактор — слабо (+). Комплемент — 10 ед., АСТ — 0,03 ед, АЛТ — 0,06 ед., HBs-антиген не обнаружен, LE-клетки единичные.

В моче: относительная плотность — 1 020, белок — 0,7‰, осадок не изменен.

Поставьте диагноз.

Задача 2. У больной 23 года, 10 лет назад после инсоляции появились эритематозные высыпания на коже лица по типу бабочки. Через несколько месяцев после гриппа — субфебрилитет, артралгии. Состояние ухудшилось в течение последних месяцев, когда усилились боли в суставах, появилось их припухание, субфебрильная температура.

При осмотре: бледность кожных покровов, эритема в виде бабочки, отеки голеней, увеличение кубитальных, подмышечных лимфоузлов до размеров лесного ореха. Суставы внешне не изменены, отеки голеней. Тоны сердца ясные, шумов нет. Печень выступает из-под реберного края на 3 см, селезенка не увеличена.

В крови: гемоглобин — 98 г/л, лейкоциты — 3,1 г/л, СОЭ — 34 мм/ч. LE-клетки единичные. Антитела к ДНК (+) в титре

1 : 240, имеются антитела к нативной ДНК, ревматоидный фактор (—). АСТ и АЛТ — 0,06 ед., билирубин — 10,3 ммоль/л, общий белок — 58 г/л, холестерин — 9,2 ммоль/л, креатинин — 102 ммоль/л, гаммаглобулины — 28%. HBs-антиген не обнаружен.

В моче: относительная плотность — 1 023 г/л, белок — 6,6‰, суточная протеинурия — 3,9 г, клубочковая фильтрация — 120 мл/мин.

Поставьте диагноз. Оцените функцию почек.

Задача 3. У больного 40 лет в течение 4 лет отмечались периодические боли и припухания суставов, преимущественно мелких суставов кистей, сопровождающиеся повышением температуры до субфебрильных цифр. Лечился нестероидными противовоспалительными средствами. В течение последнего месяца усилились боли в суставах, утренняя скованность.

Объективно: выраженная деформация суставов кистей и стоп с атрофией мышц, ульнарная девиация кистей. Подкожные плотноватые узелки размером с лесной орех на разгибательных поверхностях локтей, отечность стоп. Границы сердца смещены влево на 1 см, тоны приглушенные, слабый систолический шум на верхушке.

В крови: гемоглобин — 100 г/л, лейкоциты — 5,5 г/л, СОЭ — 30 мм/ч. Антитела к ДНК (—), ревматоидный фактор (+). Общий белок — 58 г/л, альбумины — 39%, мочева кислота — 200 мкмоль/л (норма — до 420 мкмоль/л), холестерин — 8,1 ммоль/л, креатинин — 113 ммоль/л.

Анализ мочи: относительная плотность — 1 024 г/л, белок — 2,5‰, осадок не изменен, суточная протеинурия — 3,7 г.

Рентгенография суставов: остеопороз суставных поверхностей костей, узурация эпифизов, множественные вывихи и подвывихи, анкилозы.

Поставьте диагноз. Оцените функцию почек.

Литература

1. Вест С.Дж. Секреты ревматологии. М.: БИНОМ, 2002. 468 с.
2. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология. М.: Медицинское информационное агентство, 2003. 604 с.

3. Змушко Е.И., Белозеров Е.С., Митин Ю.А. Клиническая иммунология. Руководство для врачей. СПб.: Питер, 2001. 576 с.
4. Клиническая ревматология / Под ред. Х.Л.Ф. Каррея. М.: Медицина, 1990. 448 с.
5. Лифшиц В.М., Сидельникова В.М. Медицинские лабораторные анализы: Справочник. М.: Триада-Х, 2000. 312 с.
6. Лолор Г., Фишер Т., Адельман Д. Клиническая иммунология и аллергология / Пер. с англ. М.В. Пащенко, Н.Б. Гамалея. М.: Практика, 2000. 446 с.
7. Патофизиология: Учебник для студентов / Под ред. В.В. Новицкого. Томск: Изд-во Том. ун-та, 2001. 716 с.
8. Ревматические болезни / Под ред. В.А. Насонова. М.: Медицина, 1997. 570 с.
9. Справочник по диагностическим тестам / Под ред. В.С. Камышникова. М.: Медпресс-информ, 2004. 464 с.
10. Хаитов Р.М., Игнатьева Г.А., Сидорович И.Т. Иммунология. М.: Медицина, 2000. 432 с.
11. Хиггинс К. Расшифровка клинических лабораторных анализов. М.: Бином. Лаборатория знаний, 2006. 376 с.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АГ	— антиген
АДФ	— аденозиндифосфат
АИГА	— аутоиммунная гемолитическая анемия
АИЗ	— аутоиммунное заболевание
АКТГ	— адренокортикотропный гормон
АЛТ	— аланинаминотрансфераза
АНД	— антикоагулянты непрямого действия
АПС	— активированный протеин С
АПТВ	— активированное парциальное тромбопластиновое время
АСТ	— аспаратаминотрансфераза
АТ	— антитело
АТ III	— антитромбин III
АТФ	— аденозинтрифосфат
АФП	— альфа-фетопротеин
АФС	— антифосфолипидный синдром
АХЗ	— анемия хронических заболеваний
АЧТВ	— активированное частичное тромбопластиновое время
БГЛ	— большие гранулодержащие лимфоциты
ВГ	— врожденный гипотиреоз
ВК	— время кровотечения
Г-6-ФДГ	— глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа
ГБН	— гемолитическая болезнь новорожденного
ГИМ	— гемопоэз индуцирующее микроокружение
ГЛП	— гиперлипопротеинемия
ГП	— гликопротеин
ДВС	— диссеминированное внутрисосудистое свертывание
ДЛП	— дислипопротеинемия
ЕК	— естественные киллеры
ЖДА	— железодефицитная анемия
ИБС	— ишемическая болезнь сердца
ИФА	— иммуноферментный анализ
ЙДС	— йоддефицитное состояние
ККП	— кроветворные клетки-предшественницы
КТ	— кальцитонин
ЛП	— липопротеин

ЛПВП	— липопротеин высокой плотности
ЛПНП	— липопротеин низкой плотности
ЛПОНП	— липопротеин очень низкой плотности
ЛППП	— липопротеин промежуточной плотности
ЛР	— лейкомоидная реакция
МДС	— миелодиспластический синдром
МНО	— международное нормализованное отношение
НК	— никотиновая кислота
НСЕ	— нейронспецифическая енолаза
НТЖ	— насыщение трансферрина железом
НФГ	— нефракционированный гепарин
ОЖСС	— общая железосвязывающая способность сыворотки
ОКЛ	— общее количество лейкоцитов
ОЛЛ	— острый лимфобластный лейкоз
ОМ	— опухолевые маркеры
ОМЛ	— острый миелоидный лейкоз
ОПГА	— острая постгеморрагическая анемия
ПВ	— пластиновое время
ПДФ	— продукт деградации фибрина
ПСА	— простатспецифический антиген
ПТ	— протромбиновый тест
ПЦР	— полимеразная цепная реакция
РА	— рефрактерная анемия
РАИБ-Т	— рефрактерная анемия с избытком бластов с трансформацией
РАКС	— рефрактерная анемия с кольцевыми сидеробластами
РФ	— ревматоидный фактор
РФМК	— растворимый фибрин-мономерный комплекс
РЭА	— раково-эмбриональный антиген
РЭС	— ретикулоэндотелиальная система
СДЭ	— средний диаметр эритроцитов
СЖК	— секвестранты желчных кислот
СКВ	— системная красная волчанка
СОЭ	— скорость оседания эритроцитов
СРБ	— С-реактивный белок
ССД	— системная склеродермия
T ₃	— трийодтиронин
T ₄	— тироксин
ТАП	— тканевый активатор плазминогена

ТВ	— тромбопластиновое время
ТГ	— тиреоглобулин
Тг	— триглицериды
ТПО	— тиреоидная пероксидаза
ТСГ	— тироксинсвязывающий глобулин
ТСПА	— тироксинсвязывающий преальбумин
ТТГ	— тиреотропный гормон
ТТГ-РГ	— ТТГ-рилизинг-гормон
ФНО- α	— фактор некроза опухоли- α
ХГЧ	— хорионический гонадотропин человека
ХМ	— хиломикрон
ХММЛ	— хронический миеломоноцитарный лейкоз
ХС	— холестерин
ХС-ЛПВП	— холестерин липопротеинов высокой плотности
ХС-ЛПНП	— холестерин липопротеинов низкой плотности
ЦИК	— циркулирующие иммунные клетки
ЦП	— цветовой показатель
ЩЖ	— щитовидная железа
ЭЗ	— эндемический зоб
СА	— опухольассоциированный гормон
Ig	— иммуноглобулин
SCCA	— опухольассоциированный антиген плоскоклеточной карциномы

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	4
Глава 1. Современные лабораторные технологии	7
Иммунологические методы исследования	8
Твердофазный иммуноферментный анализ.....	8
Непрямая иммунофлюоресценция	9
Радиоиммунный анализ.....	10
Иммуногистохимический метод	11
Иммуноблоттинг.....	11
Иммунохроматографический метод	12
Проточная цитофлуориметрия	14
Молекулярно-биологические методы исследования	15
Полимеразная цепная реакция	15
Биочиповая диагностика.....	17
Оптические методы исследования.....	20
Лазерная нефелометрия.....	20
Микроскопия	21
Автоматизация лабораторной техники.....	22
Контрольные вопросы и задания.....	23
Литература.....	24
Глава 2. Особенности преаналитического этапа лабораторной диагностики	25
Контрольные вопросы и задания.....	36
Литература.....	36
Глава 3. Лабораторная диагностика анемий. Эритроцитозы.....	38
Определение понятия «анемия». Критерии и методы диагностики анемий.....	38
Классификация анемий.....	43
Нормохромные анемии.....	47
Острая постгеморрагическая анемия.....	47
Гемолитические анемии.....	50
Гипопластические и апластические анемии	72
Анемии, ассоциированные с заболеваниями внутренних органов.....	75
Гипохромные анемии	77
Железодефицитная анемия.....	78
Железорефрактерная (сидеробластная) анемия.....	83
Талассемия.....	84
Анемия хронических заболеваний	85
Гиперхромные анемии.....	89
Мегалобластные (B_{12} - и фолиево-дефицитная) анемии	89

Гемолитическая болезнь новорожденного	93
Эритроцитозы.....	98
Контрольные вопросы и задания.....	101
Тесты для контроля знаний.....	104
Ситуационные задачи	108
Литература.....	113
Глава 4. Лабораторная диагностика лейкоцитозов, лейкомоидных реакций и лейкопений.....	115
Дефекты морфологии и функций лейкоцитов.....	115
Лейкоцитозы	121
Лейкемоидные реакции.....	124
Лейкопении	128
Контрольные вопросы и задания.....	139
Тесты для контроля знаний.....	140
Ситуационные задачи	145
Литература.....	149
Глава 5. Лабораторная диагностика лейкозов. Миелодиспластические синдромы	151
Определение понятия «лейкоз». Общие представления о лейкозогенезе	151
Методы диагностики лейкозов	154
Острые лейкозы.....	156
Классификация острых лейкозов	157
Клинико-лабораторная характеристика острых лейкозов	158
Острые лимфобластные лейкозы.....	160
Острые миелоидные лейкозы.....	163
Бифенотипические и недифференцированные острые лейкозы	164
Хронические лейкозы	168
Классификация хронических лейкозов	168
Клинико-лабораторная характеристика хронических лейкозов....	169
Миелодиспластические синдромы.....	179
Контрольные вопросы и задания.....	181
Тесты для контроля знаний.....	182
Ситуационные задачи	186
Литература.....	190
Глава 6. Лабораторная диагностика нарушений системы гемостаза	192
Основные принципы исследования системы гемостаза.....	193
Алгоритм лабораторной диагностики нарушений гемостаза.....	194
Роль сосудистой стенки в осуществлении гемостаза	197
Методы оценки тромбоцитарного звена гемостаза.....	198

Алгоритмы обследования больных с кровоточивостью.....	201
Исследование плазменного коагуляционного гемостаза	206
Исследование системы физиологических антикоагулянтов.....	210
Исследование фибринолитической системы	211
Определение маркеров активации свертывающей системы крови и фибринолиза.....	213
Определение риска тромбоза	213
Лабораторная диагностика антифосфолипидного синдрома.....	216
Лабораторная диагностика ДВС-синдрома.....	219
Современные принципы лабораторного контроля за антитромботи- ческой терапией	221
Лабораторный мониторинг лечения антикоагулянтами гепарино- вого ряда.....	222
Мониторинг терапии антикоагулянтами непрямого действия	225
Лабораторный контроль за применением антиагрегантных препа- ратов	227
Тромболитическая терапия.....	231
Контрольные вопросы и задания.....	232
Тесты для контроля знаний	233
Ситуационные задачи	237
Литература.....	239
Глава 7 . Лабораторный алгоритм в диагностике патологии щито- видной железы.....	241
Строение и функции щитовидной железы	241
Регуляция функции щитовидной железы.....	242
Синтез и функции тиреоидных гормонов	242
Классификация заболеваний щитовидной железы.....	244
Диагностика йоддефицитных состояний	254
Контрольные вопросы и задания.....	259
Тесты для контроля знаний	259
Ситуационные задачи	261
Литература.....	262
Глава 8. Лабораторная диагностика опухолевого процесса	264
Алгоритм обследования при подозрении на опухолевый рост	265
Онкомаркеры	267
Характеристика опухолевых маркеров.....	268
Специфические опухолевые маркеры	271
Раковый эмбриональный антиген	272
Альфа-фетопrotein	274
Специфический антиген предстательной железы	275
Раковый антиген 125	276
Раковый антиген 242	278

Раковый антиген 19-9	278
Раковый антиген 15-3	279
Хорионический гонадотропин человека	280
Иммуномаркеры рака легкого	281
Контрольные вопросы и задания	283
Тесты для контроля знаний	284
Ситуационные задачи	285
Литература	286
Глава 9. Лабораторная диагностика нарушений липидного обмена	288
Понятие о дислипидопроteinемиях	288
Липопротеины и транспорт липидов	289
Апопротеины и рецепторы липопротеинов	293
Лабораторная диагностика нарушений липидного обмена	295
Программы и алгоритмы лабораторной диагностики нарушений липидного обмена	295
Стандартизация условий исследования липидного спектра	296
Индивидуальные колебания показателей липидного обмена	297
Влияние лекарственных препаратов на показатели липидного обмена	297
Диагностика гиперхолестеринемии	298
Определение холестерина в ЛПНП	299
Определение холестерина в ЛПВП	300
Диагностика гипертриглицеридемии	300
Определение содержания апопротеинов	302
Диагностика дислипидопроteinемий	302
Классификация типов дислипидопроteinемий	302
Лабораторные методы фенотипирования дислипидопроteinемий	304
Дифференциальная диагностика первичных и вторичных дислипидопроteinемий	306
Первичные гиперлипидопроteinемии	308
Вторичные дислипидопроteinемии	311
Оценка риска развития сердечно-сосудистых заболеваний	312
Принципы и цели лечения дислипидопроteinемий	314
Немедикаментозная терапия дислипидопроteinемий	315
Медикаментозная терапия дислипидопроteinемий	315
Лабораторный контроль за лечением гиполлипидемическими препаратами	318
Контрольные вопросы и задания	319
Тесты для контроля знаний	320
Ситуационные задачи	323
Литература	325

Глава 10. Лабораторная диагностика аутоиммунных заболеваний	326
Алгоритм лабораторной диагностики аутоиммунных заболеваний...	330
Лабораторно-диагностические критерии некоторых аутоиммунных заболеваний.....	337
Ревматоидный артрит.....	337
Системная красная волчанка.....	339
Системная склеродермия.....	344
Контрольные вопросы и задания.....	346
Тесты для контроля знаний.....	347
Ситуационные задачи.....	349
Литература.....	350
Список сокращений.....	352

Учебное издание

Рязанцева Наталья Владимировна
Новицкий Вячеслав Викторович
Жукова Оксана Борисовна
Уразова Ольга Ивановна
Радзивиц Татьяна Тимофеевна
Кулагина Ирина Владимировна
Ковалёва Наталья Петровна

СОВРЕМЕННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЫ

Учебное пособие

Редактор **А.В. Базавлук**
Корректор **Е.В. Литвинова**
Верстка **Л.Д. Кривцова**
Оригинал-макет издательства **«Печатная мануфактура»**

Лицензия ИД № 03931 от 07.02.2001 г.

Подписано в печать 09.09.2008.

Формат 60х84 $\frac{1}{16}$. Печать офсетная. Бумага ВХИ.

Гарнитура KudrashovC. Печ. л. 22,5. Усл. печ. л. 20,9.

Тираж 1000 экз. Заказ 814.

ООО «Печатная мануфактура».

634055, г. Томск, а/я 3967.

Тел./факс: (3822) 493-119.

E-mail: pechat@tomsk.ru

Экспресс система определения липидного профиля № 1.

**Простой в использовании,
качество результатов
сравнимое с референс-методом**

РУ ФА по Здравоохранению и Соц. Развитию, CLIA waived



Возможны следующие тесты

- Липидный профиль
- Липидный профиль+глюкоза
- АЛТ+АСТ
- hs-CRP

Основные преимущества

Для пациентов

- Результат в течение 5 минут
- Получение результатов и назначение курса лечения в течение одного визита

Для пользователей

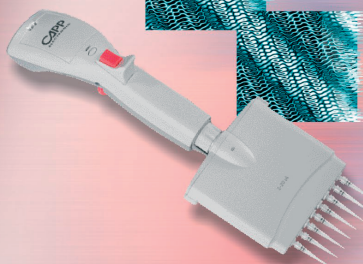
- Удобен в эксплуатации
- Простая процедура анализа
- Экономия времени и денег на повторных визитах

Система Cholestech LDX



119992, Москва, Ленинские горы, ЗАО «БиоХимМак»
тел. (495) 647-27-40, факс (495) 939-09-97
info@biochemmack.ru www.biochemmack.ru

CAPPTM



Электронные дозаторы CappTronicTM

Особенности

Возможность программировать
9 заложенных программ управления
Литиевый аккумулятор
5 параметров настройки скоростей
Соответствует стандартам ISO-8655,
CE и GLP

Механические дозаторы CappTM

Особенности

Большой выбор моделей: короткие
и универсальные, одно-
и многоканальные
Переменный и фиксированный
объем в одной пипетке
Соответствует стандартам ISO-8655,
CE и GLP

Микродозаторы

Высокая точность и воспроизводимость
Простое и очевидное управление
Эргономичный дизайн
Автоклавируемые
Легкий вес
Химическая устойчивость
Регистрация МЗ и ГосСтандартаРФ
3 года гарантии



119992, Москва, Ленинские горы, ЗАО «БиоХимМак»
Тел.: (495) 939-24-21, (495) 647-27-40; факс (495) 939-09-97
info@biochemmack.ru www.biochemmack.ru



**BECKMAN
COULTER™**

IMAGE 800

АВТОМАТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗАТОР СПЕЦИФИЧЕСКИХ БЕЛКОВ



Возможные тесты

- С3 и С4 КОМПОНЕНТЫ – КОМПЛЕМЕНТА
- С-РЕАКТИВНЫЙ БЕЛОК (высококчувствительный метод)
- ГАПТОГЛОБИН
- ИММУНОГЛОБУЛИНЫ (А, G, М, Е)
- ЛЕГКИЕ ЦЕПИ КАППА И ЛЯМБДА
- ПРОПЕРДИН-ФАКТОР В
- РЕВМАТОИДНЫЙ ФАКТОР
- АПОЛИПОПРОТЕИН А1
- АПОЛИПОПРОТЕИН В
- АЛЬФА-2 МАКРОГЛОБУЛИН
- АЛЬФА-1 МИКРОГЛОБУЛИН
- АЛЬФА-1 АНТИТРИПСИН
- ПРЕАЛЬБУМИН
- МИКРОАЛЬБУМИН
- АНТИТРОМБИН III
- ЦЕРУЛОПЛАЗМИН
- ТРАНСФЕРРИН
- ФЕРРИТИН
- АНТИ-СТРЕПТОЛИЗИН О

Основные преимущества

- Две технологии получения результата – нефелометрия и турбидиметрия с использованием микролатексных частиц.
- Одновременная работа с разными типами биологических жидкостей (сыворотка, моча, ЦСЖ).
- Минимальный объем образца для анализа – 100мкл.
- Функция автоматической проверки избытка антигена.
- 24 картриджа со штрих-кодами и до четырех флаконов с буфером на борту, достаточных для выполнения 1400 тестов.
- Калибровка для специфических белков по одной точке.
- Практически не требует ежедневного обслуживания.



119991 Москва, Ленинские горы, МГУ, д.1, стр. 11, ЗАО «БиоХимМак»
Тел.: (495) 647-27-40 многоканальный; 932-92-14, 939-23-64,
Факс: (495) 939-09-97;
www.biochemmack.ru; E-mail: info@biochemmack.ru

ALEGRIA



новый автоматический анализатор
для лабораторной диагностики
аутоиммунных заболеваний

- Анализатор типа Random Access, с гибкой системой выбора тестируемых параметров.
- Количество тестируемых параметров свыше 70.
- Одновременно можно проводить анализ в образцах от 1 до 30 пациентов.
- Производительность при полной загрузке – 30 образцов/90 минут.
- У каждого из 30 пациентов тестируемые маркеры определяются индивидуально.

ОПРЕДЕЛЯЕМЫЕ МАРКЕРЫ:

РЕВМАТОЛОГИЯ

ANA Detect
ANA Screen
ENAScreen
Dnase Activity
Anti-SS-A
Anti-SS-A-52
Anti-SS-A-60
Anti-SS-B
Anti-Sm
Anti-RNP/Sm
Anti-RNP-70
Anti-Scl-70
Anti-Jo-1
Anti-Centromer B
Anti-Nucleosome
Anti-Histone
Anti-Rib-P
Anti-dsDNA
Anti-dsDNA IgA
Anti-dsDNA IgM
Anti-dsDNA Screen
Anti-ssDNA
Anti-Alpha-Fodrin IgA
Anti-Alpha-Fodrin IgG
Rheumatoid Factor IgA
Rheumatoid Factor IgG
Rheumatoid Factor IgM
Rheumatoid Factor Screen

ДИАГНОСТИКА

ВАСКУЛИТОВ
Anti-GBM
ANCA Screen
Anti-PR3
Anti-MPO
Anti-BPI
Anti-Elastase
Anti-Cathepsin G
Anti-Lysozyme
Anti-Lactoferrin

ДИАГНОСТИКА ЖКТ

АТ к внутреннему фактору
Anti-Tissue-Transglutaminase IgA
Anti-Tissue-Transglutaminase IgG
Anti-Gliadin IgA
Anti-Gliadin IgG
Anti-Parietal Cell
ASCA IgG
ASCA IgA
AMA-M2

ТИРЕОИДНАЯ ПАНЕЛЬ

Anti-TG
Anti-TPO

ДИАБЕТ

Anti-Insulin

ДИАГНОСТИКА ТРОМБОЗОВ

Anti-Cardiolipin IgG
Anti-Cardiolipin IgM
Anti-Cardiolipin IgA
Anti-Cardiolipin Screen
Anti-B2-Glycoprotein IgG
Anti-B2-Glycoprotein IgM
Anti-B2-Glycoprotein IgA
Anti-B2-Glycoprotein Screen
Anti-Prothrombin IgG
Anti-Prothrombin IgM
Anti-Prothrombin IgA
Anti-Prothrombin Screen
Phospholipid Screen
Anti-Phosphatidyl Serine IgG
Anti-Phosphatidyl Serine IgM
Anti-Phosphatidyl Inositol IgG
Anti-Phosphatidyl Inositol IgM
Anti-Phosphatidic Acid IgG
Anti-Phosphatidic Acid IgM
Anti-Annexin V IgG
Anti-Annexin V IgM
Gastroenterology