

Гемобластозы.

Гемобластозы – это группа опухолей, возникающих из кроветворных клеток.

Виды:

- 1) *Лейкозы* – преимущественно в костном мозге;
- 2) *Гематосаркомы*- внекостномозговое разрастание кроветворных клеток;
- 3) *Лимфоцитомы и лимфомы* – опухоли, состоящие из зрелых лимфоцитов.



Острые лейкозы(ОЛ)

- **ОЛ**- клоновое опухолевое заболевание кроветворной системы с первичным поражением костного мозга.
- **Морфологическим субстратом** опухоли при ОЛ являются молодые бластные клетки.
- Лейкемическая опухоль – **самоподдерживающаяся**, угнетает нормальное кроветворение, метастазирует, растёт и вне органов кроветворения.



Патогенез острого лейкоза (Румянцев А.Г.).



Классификация острых лейкозов (FAB – группа, 1976) - основана на цитоморфологических признаках

1. Острые лимфоидные лейкозы (ОЛЛ)

- L1** – ОЛЛ с микроформой бластов
- L2** – ОЛЛ с гетерогенными формами бластов
- L3** – ОЛЛ с беркиттоподобными бластами

2. Острые миелоидные лейкозы (ОМЛ)

- M0** – ОМЛ с минимальной миелоидной дифференцировкой бластов
- M1** – ОМЛ без созревания
- M2** – ОМЛ с созреванием
- M3** – острый промиелоцитарный лейкоз
- M3V** – атипичный или гипогранулярный вариант острого промиелоцитарного лейкоза
- M4** – острый миеломонобластный лейкоз
- M4 эоз** - острый миеломонобластный лейкоз с эозинофилией
- M5a** – острый монобластный лейкоз без созревания
- M5в** - острый монобластный лейкоз с созреванием
- M6** – острый эритромиелоз
- M7** – острый мегакариобластный лейкоз



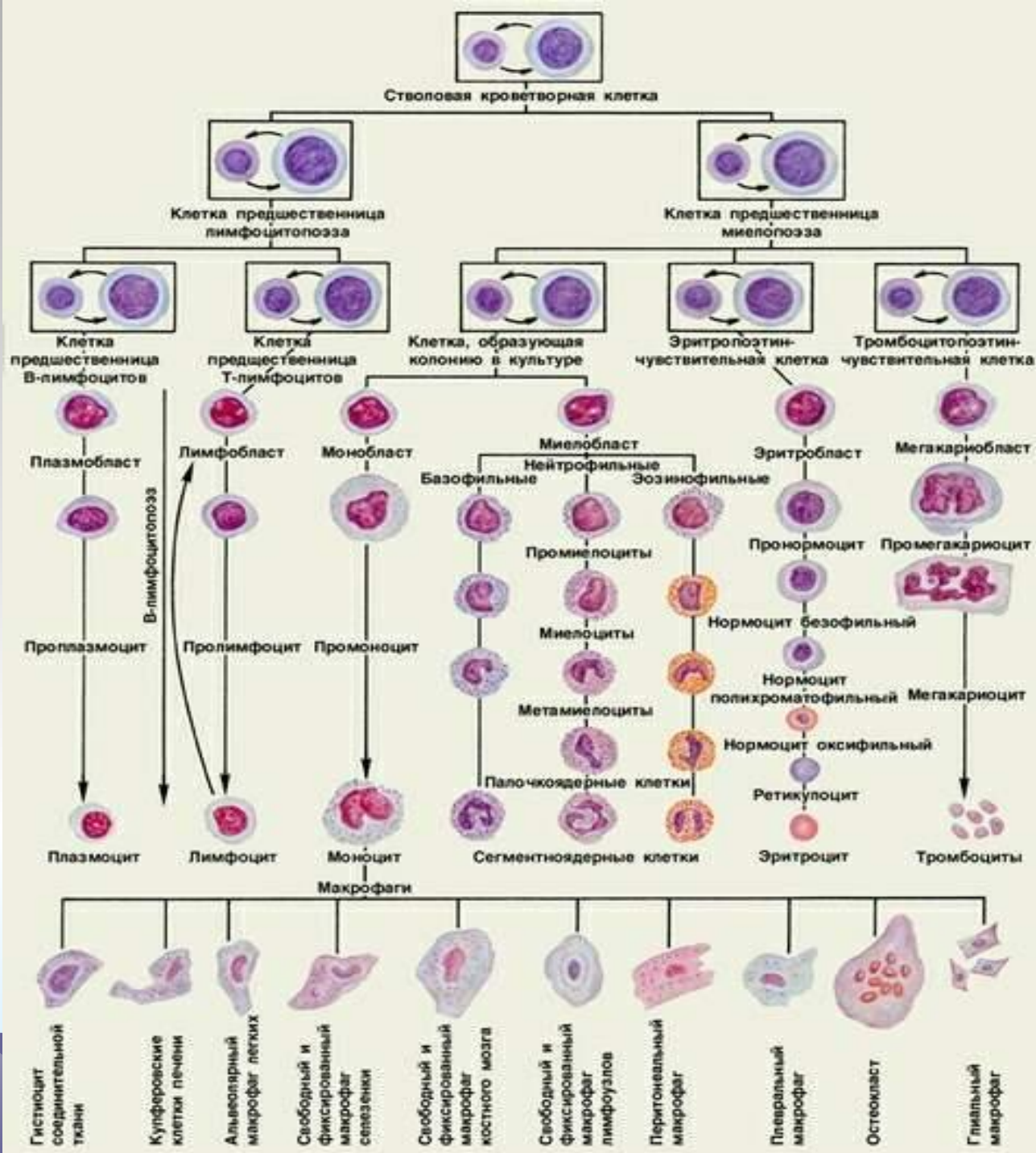
Клинические проявления.

<i>Пролиферация бластов</i>	<i>Угнетение эритроидного роста</i>	<i>Угнетение мегакариоцитарного роста</i>	<i>Угнетение гранулоцитарного роста</i>
Пролиферативный синдром: -увеличение периферических, медиастанальных и брюшных лимф.узлов, - гепатоспленомегалия, -опухолевые образования глазницы, плоских костей черепа	Анемический синдром: -бледность слизистых оболочек и кожи -вялость -слабость - субфебрилитет и др.	Геморрагический синдром: - кожные геморрагии - носовые кровотечения - кровотечения внутренних органов	Развитие иммунодефицита: - вирусные - грибковые - бактериальные инфекции.

Лабораторная диагностика

1. ОАК:

- **Нормохромная, нормоцитарная анемия** (Hb снижается до 50 г/л, эритроциты до 1 млн);
- **Ускорение СОЭ** до 50 -70 мм/ч (может быть и нормальной);
- **Лейкоцитоз** до $100 -200 \cdot 10^9/\text{л}$ или лейкопения;
- **Наличие бластов**- от 5 до 95%;
- **Лейкемический «провал»**(«зияние»)-
отсутствие переходных форм между бластами и зрелыми клетками.
- **Эозинофильно – базофильная диссоциация**-
отсутствие в крови эозинофилов и базофилов.
- **Тромбоцитопения**- часто ниже 50000 в 1 мкл.

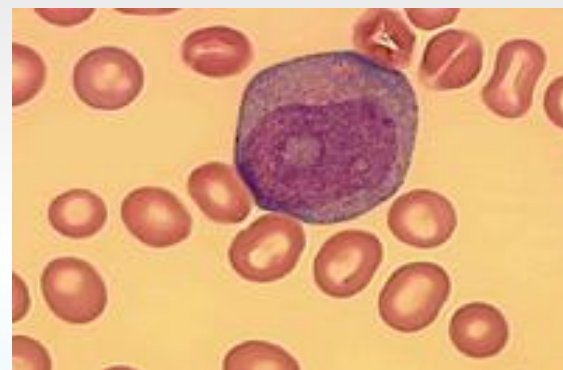
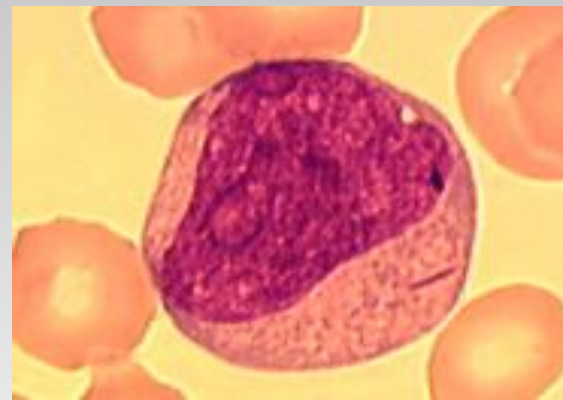


Морфология бласта.

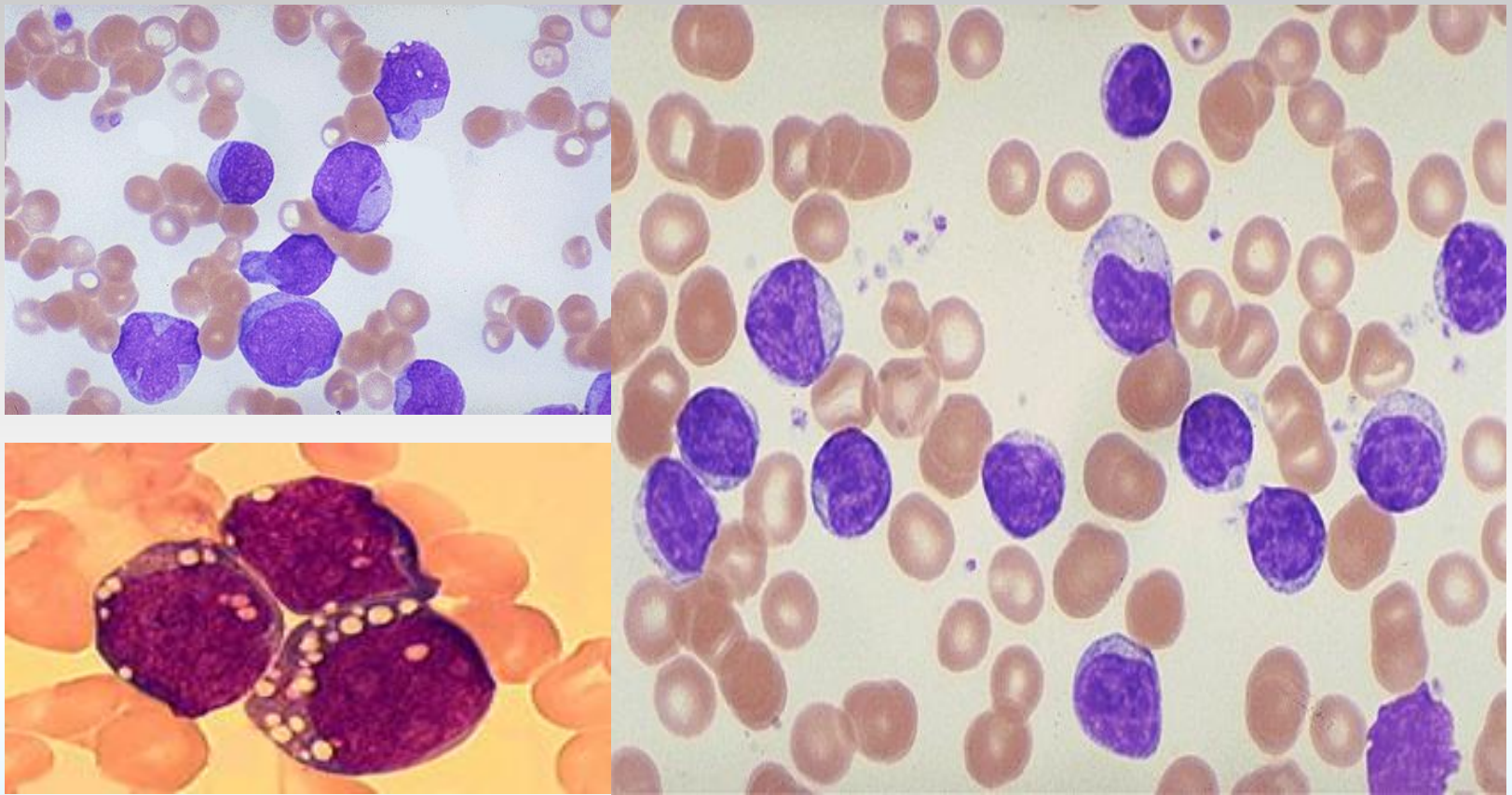
Бласт- напоминает лимфоцит, 10-20 мкм. Ядерно – цитоплазменное соотношение в пользу ядра.

Структура ядра – нежно – хроматиновая, тонкосетчатая с равномерной окраской и калибром нитей хроматина. В ядре видны нуклеолы от 2 – шт.(это скопления РНК).

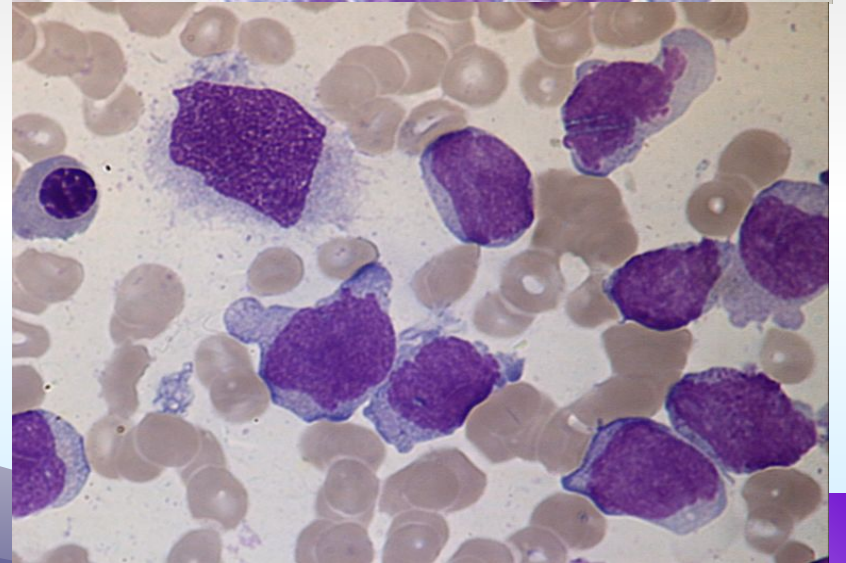
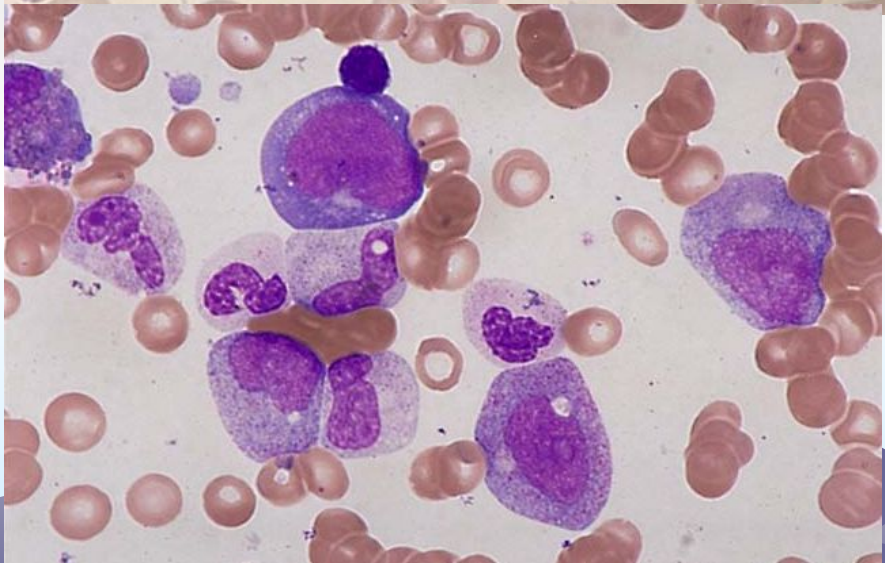
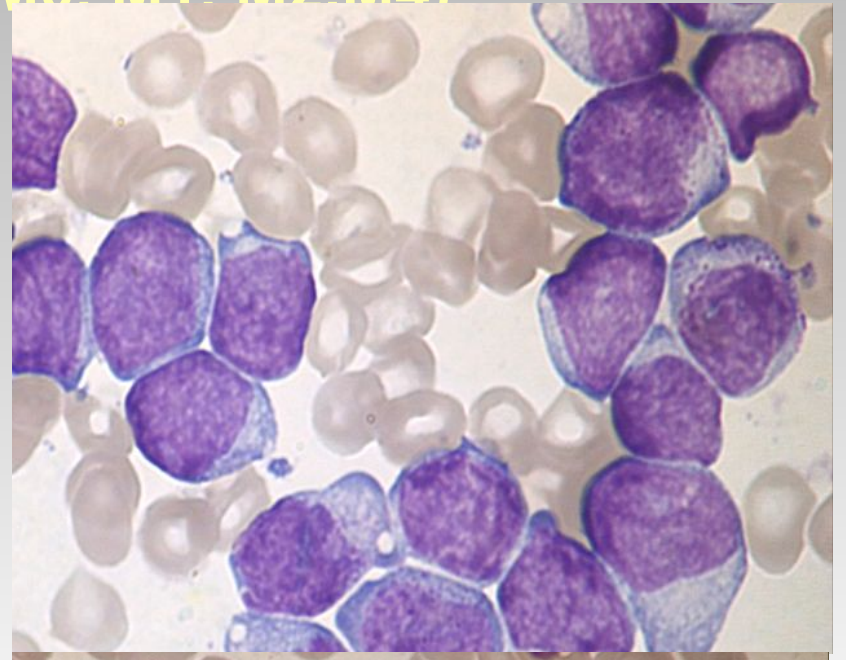
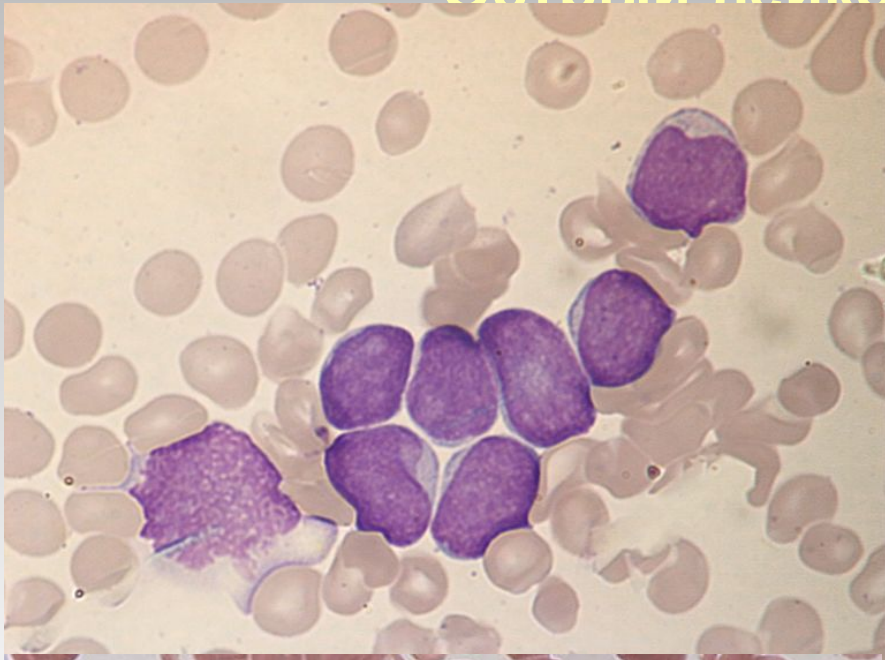
Цитоплазма базофильна, характерна азурофильная зернистость красного цвета, которая может кристаллизоваться с образованием палочек Ауэра.



Острый лейкоз



Острый лейкоз (M0 M1 M2 M4)



2.Миелограмма

Миелограмма- это процентное отношение всех кроветворных клеток костного мозга (костный мозг получают посредством аспирационной биопсии в области грудины).

Цитологическое изучение пунктата позволяет судить о:

- клеточности костного мозга
- пролиферативной активности
- дифференцировке клеток
- лейкоэритробластическом соотношении
- морфологии гемопоэтических клеток.

При острых лейкозах в *миелограмме* - сдвиг до *бластных клеток*(>20 %- наличие ОЛ,< 5%- полная ремиссия,>5%- костномозговой рецидив).

На данном этапе возможно предположить вариант ОЛ.



3. Цитохимические реакции

Позволяют изучить ферментативную активность в клетках крови, костного мозга, лимфатических узлов и других тканей.

Основой для идентификации служат особенности метаболизма, специфичные для каждого типа клеток.

Цитохимические реакции в онкогематологии используются для:

- Установления варианта острого лейкоза и бластного криза ХМЛ;
- Дифференциальной диагностики идиопатического миелофиброза и ХМЛ;
- Диагностики волосатоклеточного лейкоза и лимфомы селезёнки с отростчатыми лимфоцитами;
- Выявления особенностей метаболизма лейкозных клеток.



Цитохимические реакции.

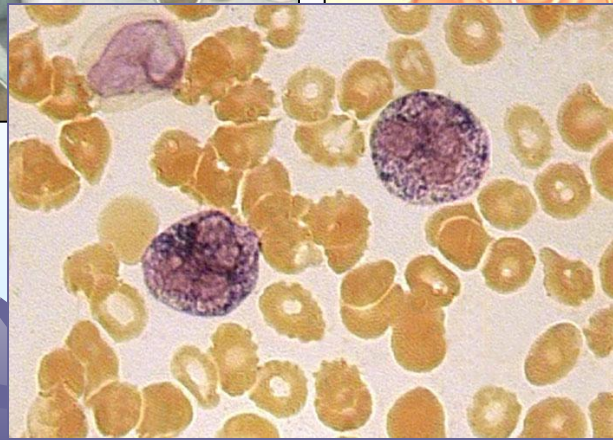
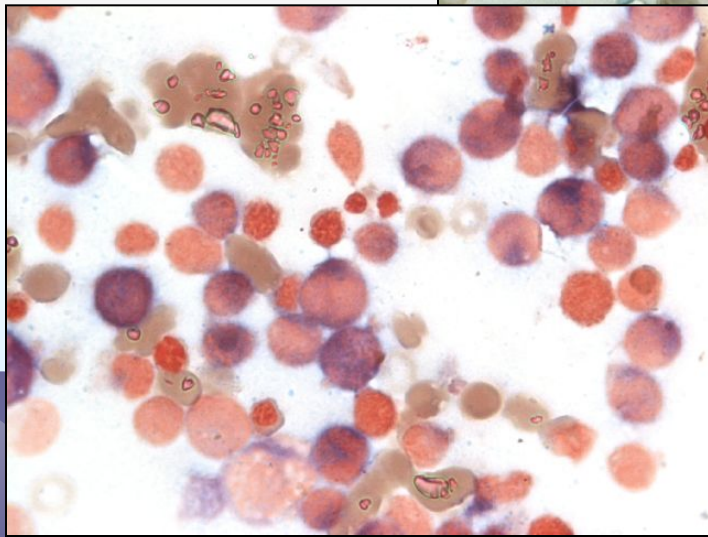
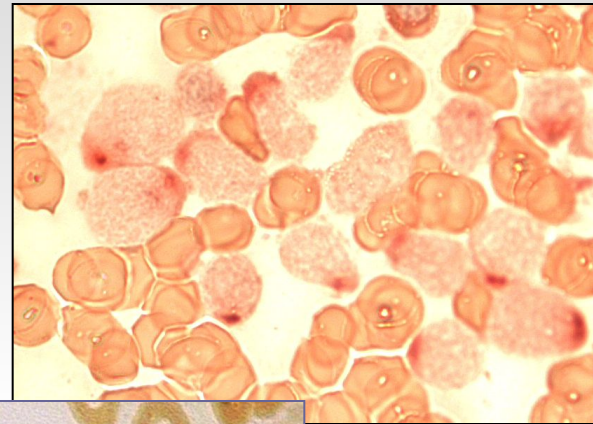
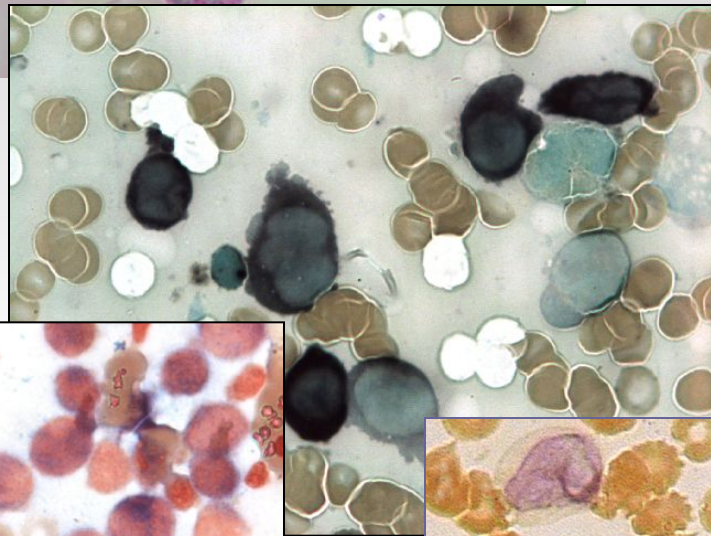
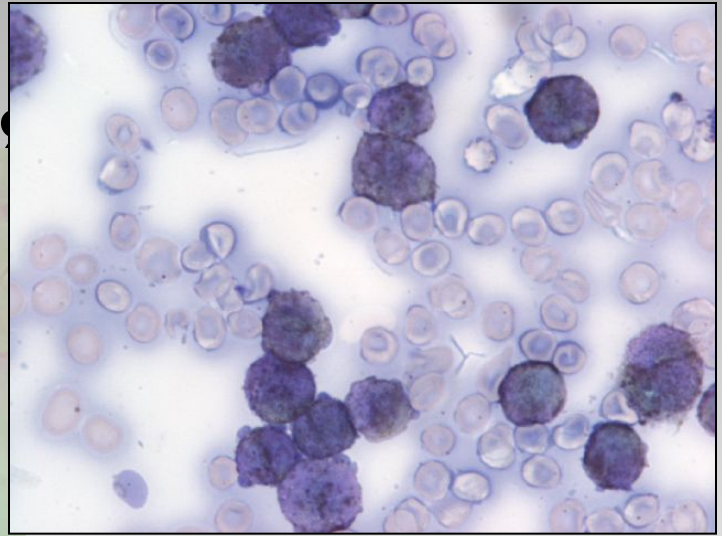
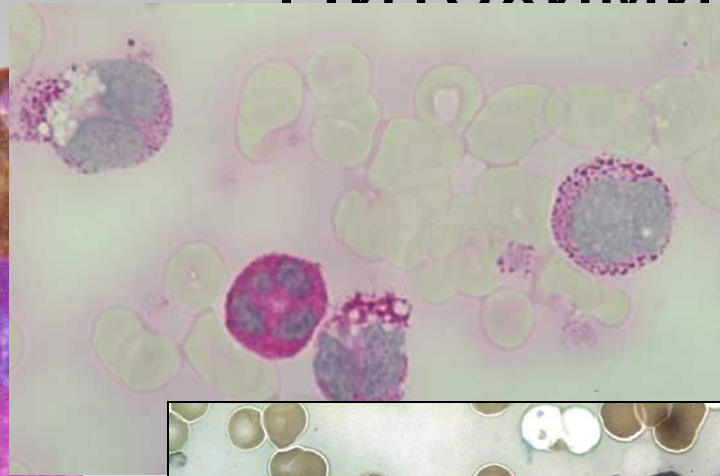
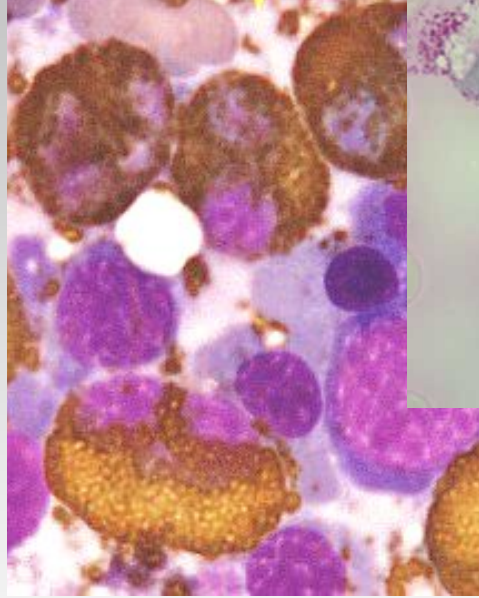
Определяемое вещество	Клетки, локализация	Клиническое значение
1. Щелочная фосфатаза	Реакцию дают только зрелые нейтрофилы, ретикулярные клетки, метамиелоциты КМ. Активность ЩФ проявляется в виде серо-чёрных гранул в цитоплазме клеток.	Повышается - при истинной полицитемии, идиопатическом миелофиброзе и бактериальных инфекциях. Понижается при ХМЛ, пароксизмальной ночной гемоглобинурии.
2. Неспецифические эстеразы	Реакцию дают моноциты, макрофаги, эозинофилы. Чёрно-коричневые гранулы на фоне диффузного окрашивания цитоплазмы.	Применяется для идентификации монобластного и моноцитарного типов лейкозов.

Цитохимические реакции

Для диагностики острых лейкозов.

<p>3. Гликоген (PAS-реакция), ШИК-реакция</p>	<p>Реакцию дают молодые клетки гранулоцитарного ряда (миелобласты, промиелоциты, миелоциты). PAS-положительное вещество откладывается в виде красных гранул различного размера в цитоплазме.</p>	<p>Основной метод для дифференциальной диагностики острых лейкозов.</p>
<p>4. Липиды</p>	<p>Реакцию дают все лейкоциты за исключением лимфоцитов. Липиды входят в состав специфической зернистости. Суданофильные гранулы окрашиваются в чёрный цвет.</p>	<p>Для дифференциальной диагностики острых лейкозов.</p>
<p>5. Миелопероксидаза (МПО)</p>	<p>Является маркером клеток миелоидного ряда, локализуется в азурофильных гранулах. Цитоплазма окрашивается в жёлто-коричневый цвет, а ядра в фиолетовый.</p>	<p>Для диагностики острых лейкозов.</p>

ЦИТОХИМИЯ



4. Иммунофенотипирование

- **Иммунофенотипирование** – определение спектра антигенов поверхностных мембран, цитоплазмы и ядер клеток, относящихся к патологическому клону, т. е. их иммунофенотипа.
- **Иммунофенотипирование применяют для:**
 1. Подтверждения диагноза при недостаточности цитологического и цитохимического методов;
 2. Характеристика иммунофенотипа в начале заболевания с целью дальнейшего отслеживания;
 3. Выделения прогностических групп.



Принцип метода



- CD (кластеры дифференцировки) – это антигены и рецепторы на поверхности клеток, совокупность которых отражает фенотип клетки и позволяет установить ее линейную принадлежность, стадию дифференцировки, метаболическую и пролиферативную активность.

Оценка иммунологического фенотипа нормальных и опухолевых клеток может проводиться различными методами:

- - реакцией иммунофлюоресценции
- иммуногистохимией
- иммуноцитохимией
- лазерной проточной цитофлюориметрией



Преимущества метода лазерной проточной цитофлюориметрии

- - исследование большого количества клеток (более 10 000 клеток в 1 секунду)
- - мониторинг минимальной резидуальной болезни в стадии ремиссии
- - одновременное изучение нескольких антигенных структур на одной клетке
- - количественная оценка экспрессии антигена
- - исследование клеточного цикла и изучение анеуплоидных клеток



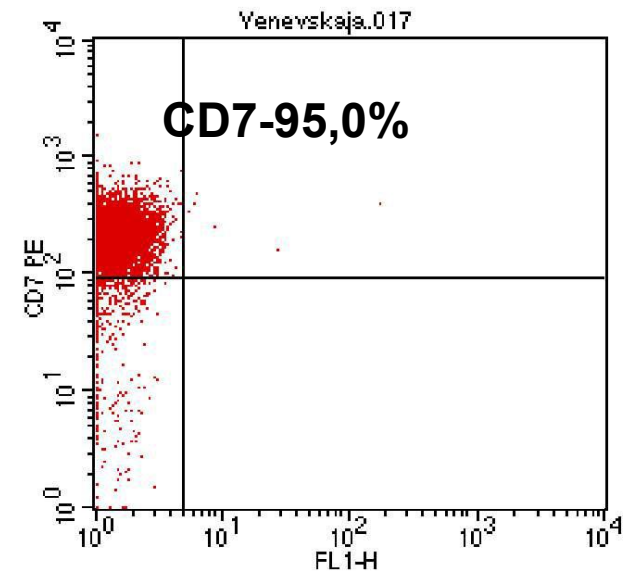
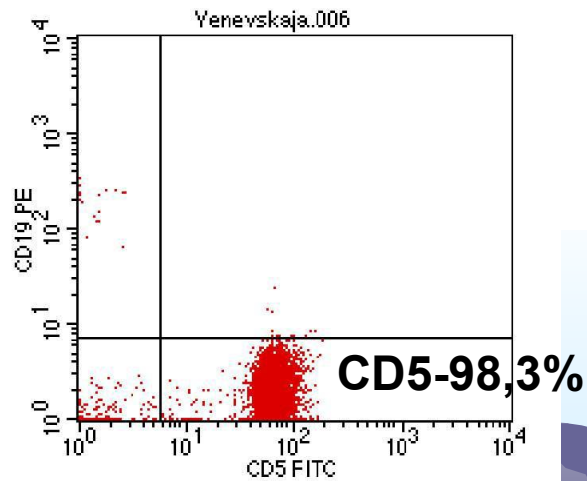
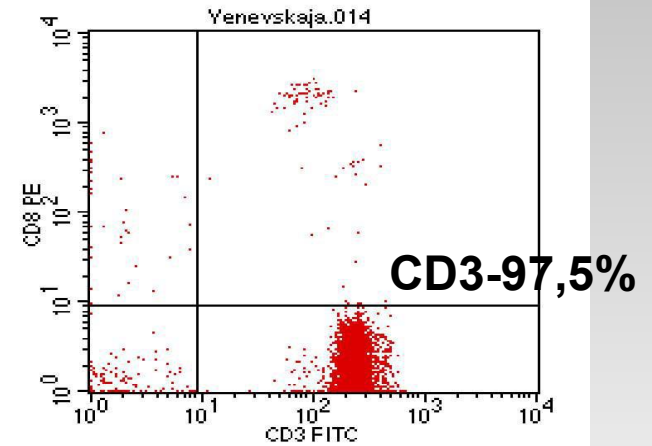
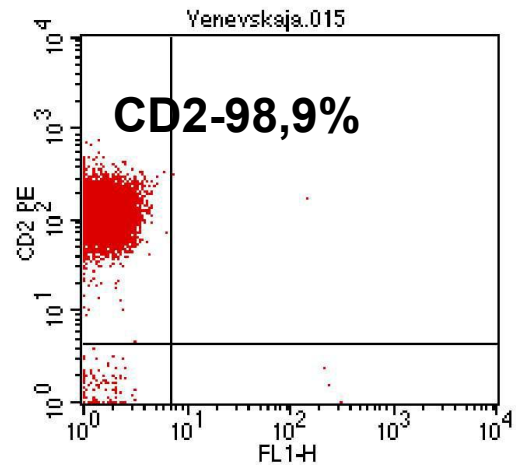
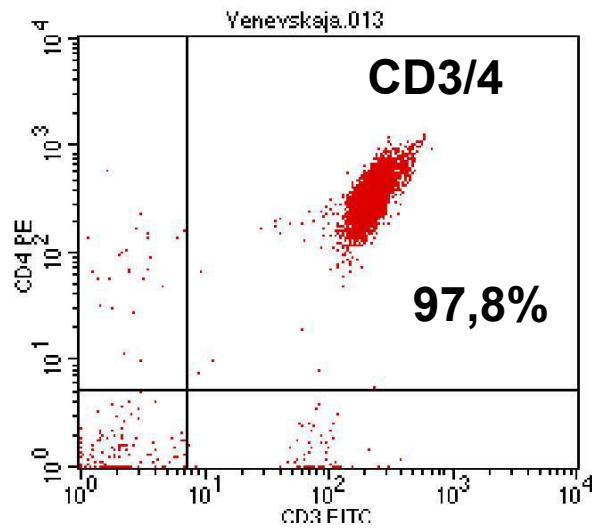
Материалом для исследования может Материалом для исследования может быть **любая взвесь клеток:**

- - кровь
- - КОСТНЫЙ МОЗГ
- - ликвор
- - плевральная, асцитическая жидкость
- - ткань лимфоузла, селезенки
- - клетки солидных опухолей после предварительной обработки



Иммунофенотипирование

Иммунофенотипирование



- **В пункте КМ бластные клетки составляют 88,2%**, представлены преимущественно мезоформами с умеренным ядерно-цитоплазматическим соотношением и слабой базофилией цитоплазмы. Форма ядер в основном округлая, структура хроматина нежная. Зернистость не определяется.
- **МПО и липиды отрицательные, PAS-положительное** вещество в гранулярной форме в единичных бластных клетках.
- Установление морфоцитохимического варианта острого лейкоза затруднено.
- *При иммунофенотипировании КМ выявлен фенотип бластных клеток:*
- **CD34+, HLA-DR+, CD13+, CD33+, CD7+**
- **Заключение:** иммунофенотип бластных клеток соответствует M0 варианту ОМЛ с коэкспрессией T-клеточного антигена CD7, что отражает неблагоприятный прогноз заболевания.

Иммунофенотипическая характеристика бластных клеток при различных вариантах ОМЛ

Вариант ОЛ по ФАБ-классификации	Экспрессия лейкоцитарных антигенов (процент наблюдений ОМЛ, позитивных на тот или иной маркер)											
	CD 34	CD 117	HLA-DR	MPO	CD 13	CD 33	CD 15	CD 65	CD 14	GPA	CD 36	CD41a
M ₀	75	75	75	>80	75	75	30	30	0	0	0	0
M ₁	75	75	75	>80	75	75	75	75	0	0	0	0
M ₂	75	75	>80	>80	>80	>80	75	75	0	0	0	0
M ₃	<10	30	<10	>80	>80	>80	75	75	0	0	0	0
M ₄	75	75	>80	>80	75	>80	75	>80	75	0	30	0
M ₅	<10	30	>80	>80	75	>80	75	>80	75	0	75	0
M ₆	30	30	75	>80	75	75	30	75	0	>80	75	0
M ₇	30	30	30	0	30	75	30	<10	0	<10	75	>80

ФАБ – Франко-Американо-Британская классификация; MPO – миелопероксидаза;
GPA – гликофорин А.

Морфологическая характеристика острых лейкозов.

- **L1** – лимфобласты мономорфные, до 10 мкм, высокое ядерно – цитоплазматическое соотношение, цитоплазма базофильная. Чаще встречается у детей.
- **L2** – гетерогенные лимфобласты, ядерно- цитоплазматическое соотношение варьирует, ядра разнообразной формы, отчётливо видны нуклеолы, цитоплазма вакуолизирована.
- **L3** – лимфобласты 15 – 20 мкм, ядро в виде круга или овала, резкая базофилия и вакуолизация цитоплазмы.

Для L1, L2, L3 характерны:

- 1) ШИК- реакция на гликоген «+» в гранулярной форме,
- 2) «+» неспецифическая эстераза,
- 3) «-» реакция на миелопероксидазу.



М0 – бласты не имеют специфических признаков, цитоплазма голубая без включений. Миелопероксидаза не выявляется, ШИК – реакция – слабоположительная.

М1 – бласты среднего размера, ядерно- цитоплазматическое соотношение, ядра округлой формы, содержат нуклеолы.

Реакция на МПО «+», ШИК – реакция «+» в диффузной форме.

При иммунологическом исследовании- экспрессия антигенов CD 13 и CD 33.

М2 – бласты среднего размера (10- 12мкм), большинство которых содержат зернистость в цитоплазме, палочки Ауэра. Реакция на МПО «+», ШИК – реакция «+» в диффузной форме. Экспрессия антигенов CD 15 , CD 33, CD 11.

М3 – морфологический субстрат – промиелоциты, содержат азурофильную зернистость, палочки Ауэра, ядерно- цитоплазматическое соотношение, полиморфизм ядер, отсутствие нуклеол.

М3V - отличаются гиперхромией ядер бобовидной формы. В цитоплазме – отсутствие или пылевидная азурофильная зернистость.

При обоих типах высокая активность МПО, кислой эстеразы, ШИК – реакция «+» в диффузной форме.



М4 – миелобласты, либо монобласты. Неспецифическая эстераза «+», ШИК – реакция «+» в диффузной форме. В ОАК при данной форме ОЛ – абсолютный моноцитоз.

М5 – по степени зрелости бластов различают 2 подгруппы:

М5а – монобласты большого размера, умеренное ядерно-цитоплазматическое соотношение, округлое или бобовидное ядро, 1-2 нулеолы, светло-голубая цитоплазма.

М5в – бластные клетки отличаются выраженным полиморфизмом ядер(бобовидные, округлые, сегментированные, цитоплазма голубого или синего цвета.

МПО «-», неспецифическая эстераза «++», ШИК – реакция «+» в диффузной форме.



M6 – характеризуется опухолевой пролиферацией в костном мозге бластов(более30%) и эритрокариоцитов(50% и более). Бласты представлены двумя типами клеток: эритробластами и миелобластами. Морфологические признаки дисэритропоэза: многоядерность эритронормобластов, , межклеточные и межъядерные мостики, кариорексис, неровные контуры ядерной мембраны, уродливость ядер, форма которых напоминает «розетку, «трилистник», базофильная пунктация, тельца Жолли. Для определения типа бластов при данной форме ОЛ применяют иммунофенотипирование.

M7 – Встречается очень редко (1% ОМЛ). Бластные клетки характеризуется высоким ядерно - цитоплазматическим соотношением, округлой формой ядер, гиперхромией, отросчатой, резко- базофильной цитоплазмой. МПО и липиды «-», ШИК – реакция «+» в диффузной форме. Убедительная диагностика только после иммунофенотипирования с выявлением антигенов CD- 41, CD- 61.



Нормальный костный мозг

Нормальный костный мозг

