

Вводная лекция. Предмет и задачи гематологии. Физико-химические показатели крови. Органы кроветворения

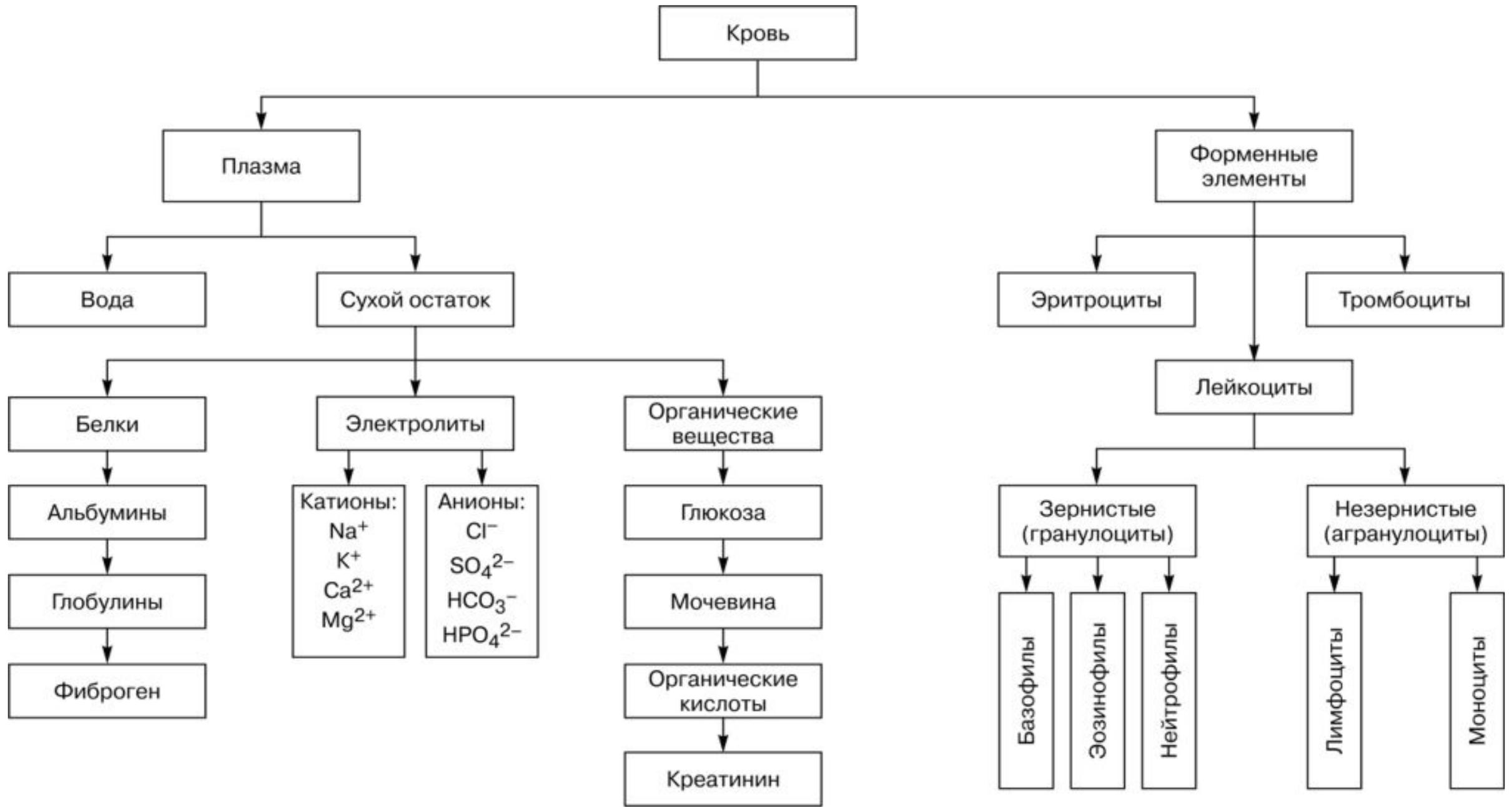
План:

- 1. Предмет и задачи
- 2. Физико-химические показатели крови
- 3. Органы кроветворения

- **1.** Исследования крови – один из важнейших диагностических методов. Кроветворные органы чрезвычайно чувствительны к различным физиологическим и особенно патологическим воздействиям на организм животного. Следовательно, картина крови очень информативно отражает состояние гомеостаза и функциональную полноценность организма [1].
- С диагностической точки зрения предметом исследования крови для получения информации о состоянии организма служат:
 - -структурные характеристики – форма и строение клеток;
 - -количественные характеристики – размеры и соотношения структурных компонентов клеток, определённых клеточных элементов и их соотношение, концентрация химических соединений (ферментов, гормонов, белков, пигментов, жиров, углеводов, микро – и макроэлементов);
 - -функциональные характеристики – осуществление цикла развития и созревания клеток, превращения химических

- Клеточный и химический состав крови не является постоянным, поскольку отражает количественные и качественные изменения, происходящие при непрерывной смене физиологических процессов в организме: смена физической активности, приём корма, сон и бодрствование, влияние биологических ритмов. Эти факторы влияют на индивидуальные показатели крови. Однако, нормальными показателями считают значения у тщательно обследованных групп животных среднего возраста без объективных признаков патологии.
- Чрезмерное возбуждение животного во время фиксации и взятия крови, приём/дача лекарственных препаратов, кормление животного, вид, возраст и пол оказывают существенное влияние на результаты лабораторных исследований.

- **2.** Кровь — это жидкая соединительная ткань, которая состоит из жидкой части — *плазмы* и взвешенных в ней клеток — *форменных элементов*: эритроцитов (красных клеток крови), *лейкоцитов* (белых клеток крови), тромбоцитов (кровяных пластинок). У взрослого человека форменные элементы крови составляют около 40—48%, а плазма — 52—60%. Это соотношение получило название гематокритного числа (от греч. *haima* — кровь, *kritos* — показатель).



- **Осмотическое давление крови.** Если два раствора разной концентрации разделить полупроницаемой перегородкой, пропускающей только растворитель (например, воду), то вода переходит в более концентрированный раствор. Сила, определяющая движение растворителя через полупроницаемую мембрану, называется *осмотическим давлением*.
- Осмотическое давление крови, лимфы и тканевой жидкости определяет обмен воды между кровью и тканями. Изменение осмотического давления жидкости, окружающей клетки, ведет к нарушению в них водного обмена. Это видно на примере эритроцитов, которые в гипертоническом растворе NaCl (много соли) теряют воду и сморщиваются. В гипотоническом растворе NaCl (мало соли) эритроциты, наоборот, набухают, увеличиваются в объеме и могут лопнуть.
- Осмотическое давление крови зависит от растворенных в ней солей. Около 60% этого давления создается NaCl. Осмотическое давление крови, лимфы и тканевой жидкости приблизительно одинаково (примерно 290—300 мосм/л, или 7,6 атм) и отличается постоянством. Даже в случаях, когда в кровь поступает значительное количество воды или соли, осмотическое давление не претерпевает значительных изменений. При избыточном поступлении в кровь вода быстро выводится почками и переходит в ткани, что восстанавливает исходную величину осмотического давления. Если же в крови повышается концентрация солей, то в сосудистое русло переходит вода из тканевой жидкости, а почки начинают усиленно выводить соль. Продукты переваривания белков, жиров и углеводов, всасывающиеся в кровь и лимфу, а также низкомолекулярные продукты клеточного метаболизма могут изменять осмотическое давление в небольших пределах.
- Поддержание постоянства осмотического давления играет очень важную роль в жизнедеятельности клеток.

- **Концентрация водородных ионов и регуляция pH крови.** Кровь имеет слабощелочную среду: pH артериальной крови равен 7,4; pH венозной крови вследствие большого содержания в ней углекислоты составляет 7,35. Внутри клеток pH несколько ниже (7,0—7,2), что обусловлено образованием в них при метаболизме кислых продуктов. Крайними пределами изменений pH, совместимыми с жизнью, являются величины от 7,2 до 7,6. Смещение pH за эти пределы вызывает тяжелые нарушения и может привести к смерти. У здоровых животных pH крови колеблется в пределах 7,35—7,40. Длительное смещение pH даже на 0,1—0,2 может оказаться губительным.
- Так, при pH 6,95 наступает потеря сознания, и если эти сдвиги в кратчайший срок не ликвидируются, то неминуем летальный исход. Если pH становится равен 7,7, то наступают тяжелейшие судороги (тетания), что также может привести к смерти.
- В процессе обмена веществ ткани выделяют в тканевую жидкость, а следовательно, и в кровь «кислые» продукты обмена, что должно приводить к сдвигу pH в кислую сторону. Так, в результате интенсивной мышечной деятельности в кровь может поступать в течение нескольких минут до 90 г молочной кислоты. Если это количество молочной кислоты прибавить к объему дистиллированной воды, равному объему циркулирующей крови, то концентрация ионов H^+ возрастет в ней в 40 000 раз. Реакция же крови при этих условиях практически не изменяется, что объясняется наличием буферных систем крови. Кроме того, в организме pH сохраняется за счет работы почек и легких, удаляющих из крови углекислый газ, избыток солей, кислот и щелочей.
- Постоянство pH крови поддерживается *буферными системами*: гемоглобиновой, карбонатной, фосфатной и белками плазмы.

- *Буферная система гемоглобина* самая мощная. На ее долю приходится 75% буферной емкости крови. Эта система состоит из восстановленного гемоглобина (ННЬ) и его калиевой соли (КНЬ). Буферные свойства ее обусловлены тем, что при избытке H^+ КНЬ отдает ионы K^+ , а сам присоединяет H^+ и становится очень слабо диссоциирующей кислотой. В тканях система гемоглобина крови выполняет функцию щелочи, предотвращая закисление крови вследствие поступления в нее углекислого газа и H^+ -ионов. В легких гемоглобин ведет себя как кислота, предотвращая защелачивание крови после выделения из нее углекислоты.

- *Карбонатная буферная система* (H_2CO_3 и NaHCO_3) по своей мощности занимает второе место после системы гемоглобина. Она функционирует следующим образом: NaHCO_3 диссоциирует на ионы Na^+ и HCO_3^- . При поступлении в кровь более сильной кислоты, чем угольная, происходит реакция обмена ионами Na^+ с образованием слабо диссоциирующей и легко растворимой H_2CO_3 . Таким образом, предотвращается повышение концентрации H^+ -ионов в крови. Увеличение в крови содержания угольной кислоты приводит к ее распаду (под влиянием особого фермента, находящегося в эритроцитах, — карбоангидразы) на воду и углекислый газ. Последний поступает в легкие и выделяется в окружающую среду. В результате этих процессов поступление кислоты в кровь приводит лишь к небольшому временному повышению содержания нейтральной соли без сдвига pH. В случае поступления в кровь щелочи, она реагирует с угольной кислотой, образуя гидрокарбонат (NaHCO_3) и воду. Возникающий при этом дефицит угольной кислоты немедленно компенсируется уменьшением выделения углекислого газа легкими.

- *Фосфатная буферная система* образована дигидрофосфатом (NaH_2PO_4) и гидрофосфатом (Na_2HPO_4) натрия. Первое соединение слабо диссоциирует и ведет себя как слабая кислота. Второе соединение обладает щелочными свойствами. При введении в кровь более сильной кислоты она реагирует с Na_2HPO_4 , образуя нейтральную соль и увеличивая количество мало диссоциирующего дигидрофосфата натрия. В случае введения в кровь сильной щелочи она взаимодействует с дигидрофосфатом натрия, образуя слабощелочной гидрофосфат натрия; pH крови при этом изменяется незначительно. В обоих случаях избыток дигидрофосфата и гидрофосфата натрия выделяется с мочой.

- Важная роль в поддержании pH крови отводится нервной регуляции. При этом преимущественно раздражаются хеморецепторы сосудистых рефлексогенных зон, импульсы от которых поступают в продолговатый мозг и другие отделы ЦНС, что рефлекторно включает в реакцию периферические органы — почки, легкие, потовые железы, желудочно-кишечный тракт, деятельность которых направлена на восстановление исходных величин pH. Так, при сдвиге pH в кислую сторону почки усиленно выделяют с мочой анион H_2PO_4^- . При сдвиге pH в щелочную сторону увеличивается выделение почками анионов HPO_4^{2-} и HCO_3^- . Потовые железы человека способны выводить избыток молочной кислоты, а легкие — CO_2 .
- При различных патологических состояниях может наблюдаться сдвиг pH как в кислую, так и в щелочную среду. Первый из них носит название *ацидоз*, второй — *алкалоз* [2].

- **3. Костный мозг** заполняет костномозговые полости. Он представляет очень нежное и обильно пронизанное широкими кровеносными капиллярами образование красного цвета; его остовом служит широкоплетистая ретикулярная ткань. В петлях этой сети располагается масса необычайно разнообразных клеточных элементов: сформированные красные кровяные клетки – эритроциты, зернистые лейкоциты, малые и большие лимфоциты. Родоначальники перечисленных клеток и их поколения, постепенно превращающиеся в зрелые формы эритроцитов и зернистых лейкоцитов. Таким образом, в красном костном мозге костных полостей происходит процесс кроветворения. Так же здесь расположены большие одноядерные клетки – мегакариоциты и жировые клетки; если преобладают жировые клетки, то мозг приобретает желтоватый оттенок и называется жёлтый костный мозг; он является запасом питательных веществ.

- **В селезёнке** во время внутриутробного развития развиваются лимфоциты и эритроциты, а в постнатальном периоде – только лимфоциты. В селезёнке разрушаются отжившие эритроциты, а из материала, из которого они построены, в печени синтезируются желчные пигменты, ввиду чего селезёнка играет большую роль в обмене железа в организме. Кроме того, благодаря строению красной пульпы, селезёнка служит биологическим фильтром для крови как в нормальных условиях, так и особенно при патологических состояниях. Так же она является резервуаром для излишней крови.
- Д/з зарисовать анатомическое строение селезенки КРС, лошадей, свиней и собак в тетрадь.

- **Тимус** (центральный орган лимфообразования) относится к центральным органам кроветворения, ответственной за иммунитет. В тимусе образуется популяция Т-лимфоцитов, дифференцирующихся из костномозговых предшественников и участвующих в клеточных реакциях иммунитета. Из прибывших сюда костномозговых предшественников Т-лимфоцитарных клеток происходит процесс антигеннезависимой дифференцировки в зрелые формы Т-лимфоцитов, выполняющих функции как клеточного, так и гуморального звена иммунитета.
- **Лимфатические узлы** прежде всего являются центрами размножения лимфоцитов, которые увеличиваются с током лимфы из синусов узлов и поступают вместе с последней в конечном итоге в кровь. Гемолимфатические узлы по строению походят на селезенку. Они утратили связь с аппаратом лимфообращения, но сохраняют её с аппаратом кровообращения. Находятся они всюду: на органах грудной и брюшной полостей, между мускулами и под кожей, размерами от нескольких мм до 1 см в поперечнике. Гемолимфатические узлы являются местом разрушения эритроцитов и образования новых лимфоцитов.

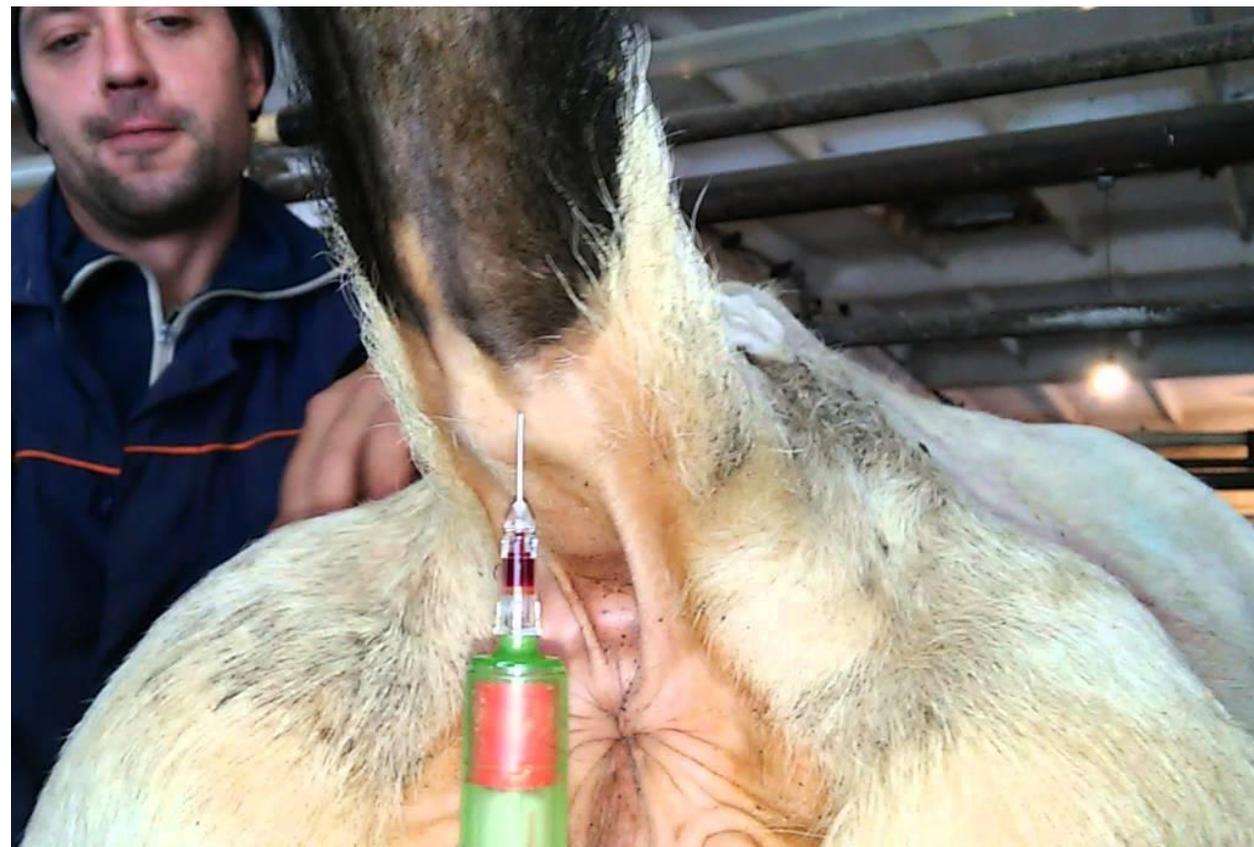
- В эмбриональном периоде развито экстрамедуллярное (внекостномозговое) кроветворение. Кроветворными органами при этом являются **печень** и **селезенка**. Пока наряду с костным мозгом в качестве кроветворного органа функционирует печень, в костном мозге развиваются главным образом лимфоциты. После того как кроветворная деятельность печени прекратится, в костном мозге начинают развиваться преимущественно эритроциты и зернистые формы лейкоцитов.

- Все клетки крови имеют определенный срок жизни, но в кровеносной системе здоровых животных их количество поддерживается примерно на постоянном уровне. Клетки крови постоянно обновляются, что возможно благодаря их образованию в красном костном мозге.
- Гемопоз, кроветворение являются сложным и строго регулируемым процессом. В костном мозге все клетки крови берут начало в стволовых клетках.

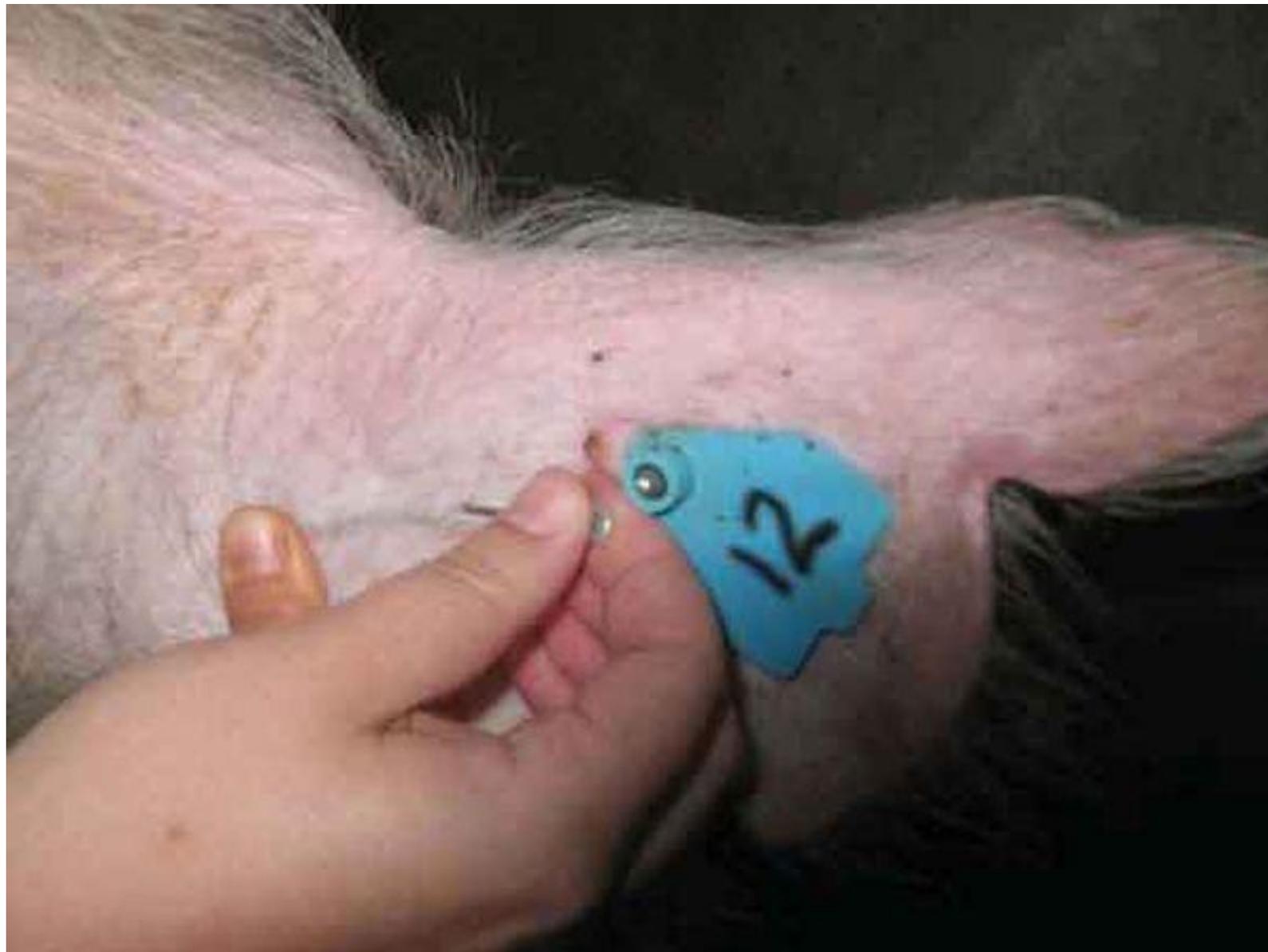
Техника гематологических исследований: подготовка предметных стекол, взятие крови у животных, приготовление и фиксация мазков периферической крови

- !!!У моногастричных животных кровь берут до кормления в утренние часы, у жвачных – утром, через 4 часа после кормления!!!
- В организме различают артериальную, венозную и капиллярную кровь, которая имеет некоторые цитологические и биохимические различия.
- Для морфологических исследований используют преимущественно капиллярную кровь, для биохимического анализа – венозную.
- Капиллярную кровь берут из внутренней поверхности ушной раковины; у птиц – из гребня, серёжек, мякоти ступни, у водоплавающих – из межпальцевых перепонки. Место укола обрабатывают спиртом. Первую каплю крови стирают, т.к. она содержит случайные примеси и лимфу, а последующие берут для исследования. Важно, чтобы кровь вытекала без надавливания иначе происходит её смешивание с лимфой

- Венозную кровь у лошадей, крс, мрс, верблюдов берут из яремной или подхвостовой вены.

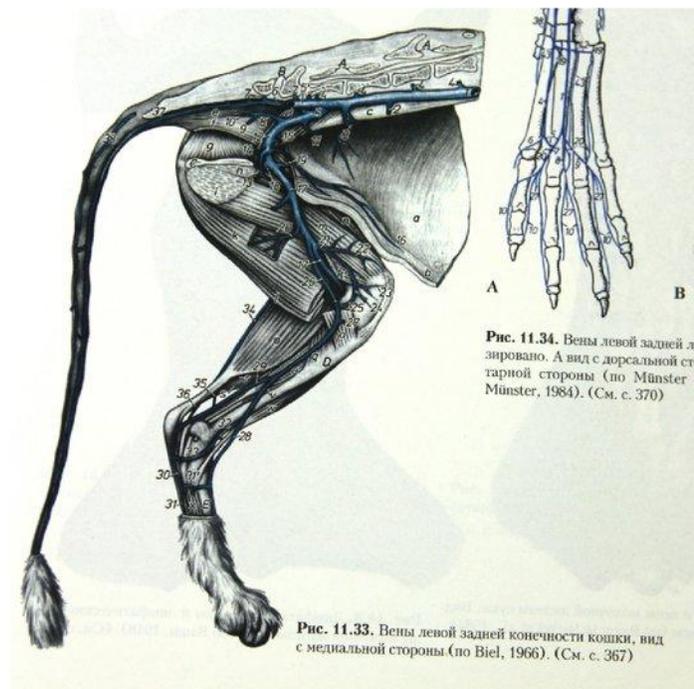
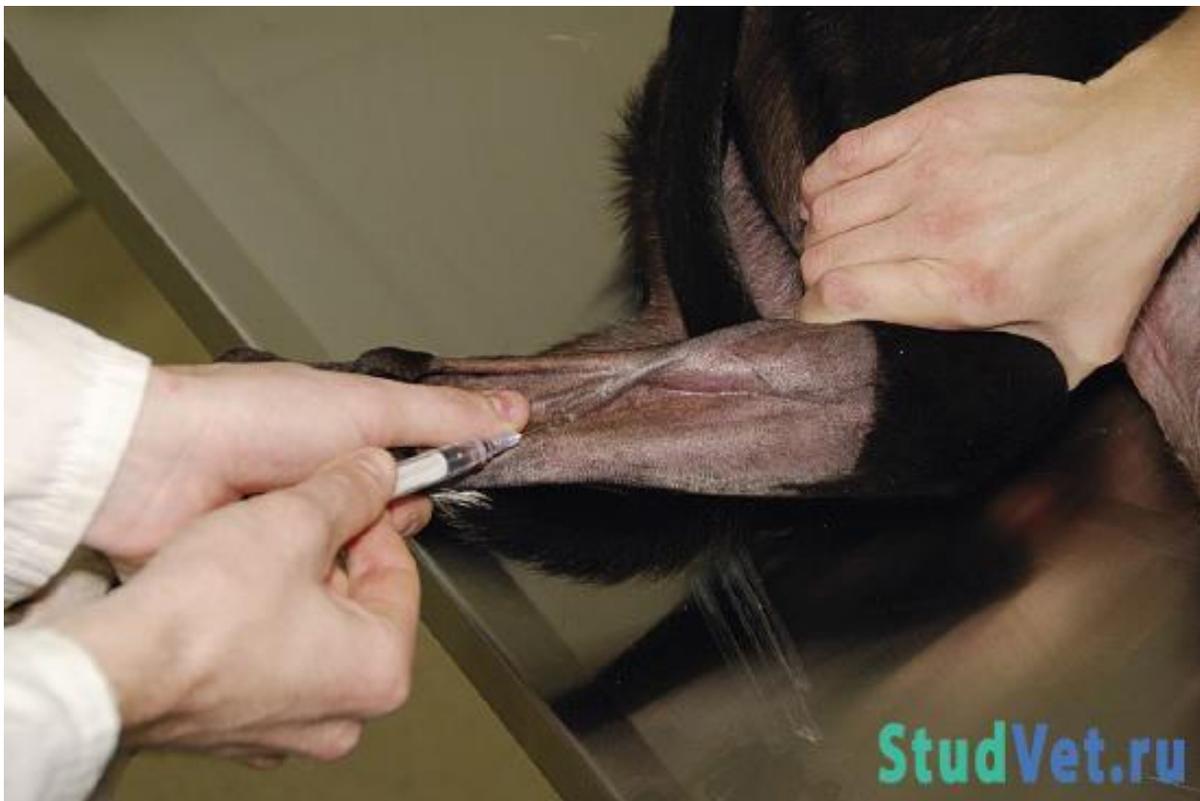


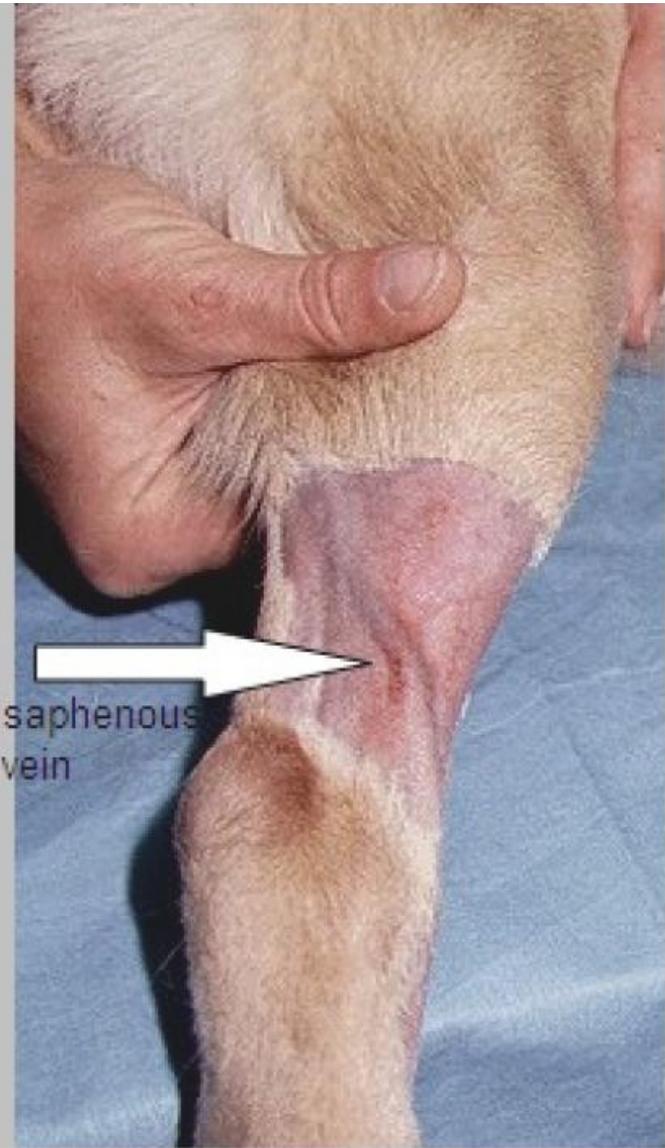
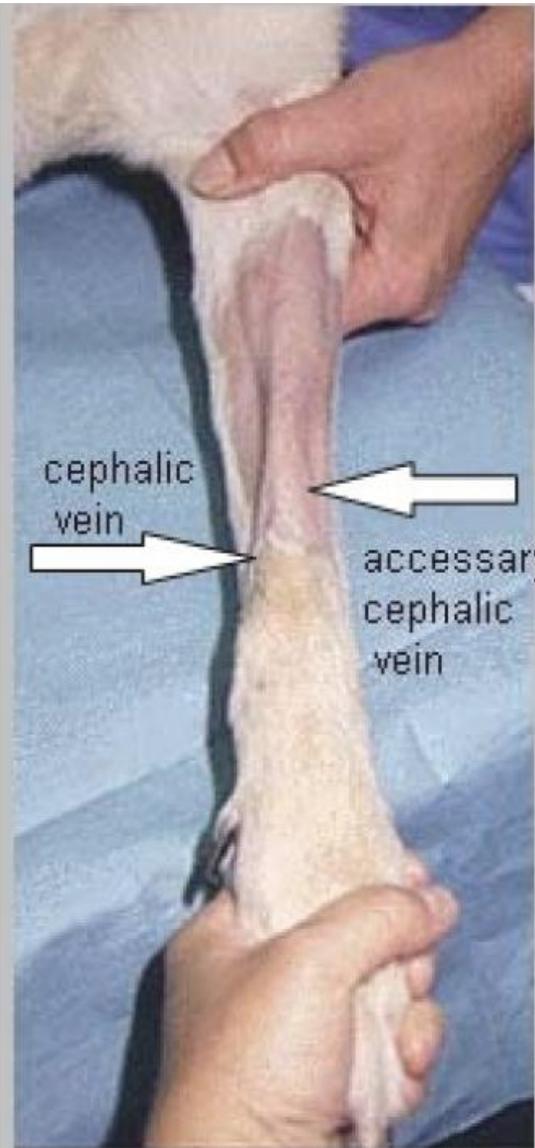
У свиней – из крупных сосудов ушной раковины.



- У МДЖ (в т.ч. хорьки) – из подкожной вены плеча, подкожной вены голени, из ярёмной вены.

Медиальная сафена





- У птиц – из подмышечной вены, под кожей с внутренней поверхности крыла, или из сердца.



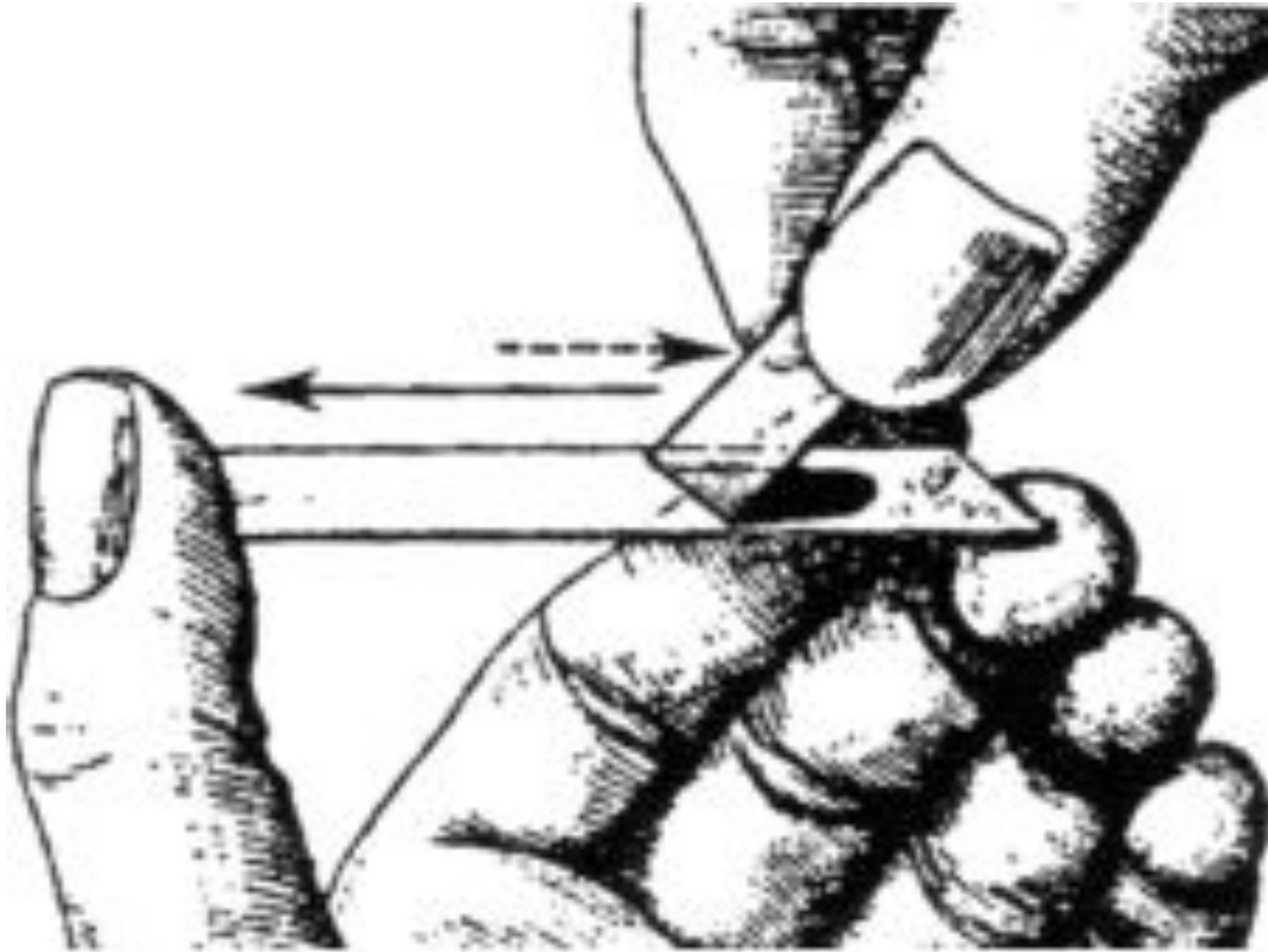
- У нерп – из вен задних ласт, либо вены передней ласты.

- В зависимости от цели исследования анализу подвергают цельную кровь, плазму или сыворотку. Для общего клинического анализа используется цельная кровь с добавлением антикоагулянта. Например, антикоагулянтом служит 1% гепарин (2-3 кап на 15-20 мл крови), 10% ЭДТА (этилендиаминтетрауксусная кислота) (3-4 кап), 20% водный раствор цитрата натрия или оксалата натрия (0,5-1 мл).
- Так, кровь стабилизированную лимоннокислым натрием, можно хранить не более суток, гепарин используют только для немедленного проведения анализа (иначе он быстро вызывает гемолиз форменных элементов или разведение пробы).
- Для получения сыворотки используют кровь без добавления антикоагулянта. Или используют пробирки с активатором свертывания крови и разделительным гелем.
- Для коагулологических исследований используется пробирка с цитратом натрия.

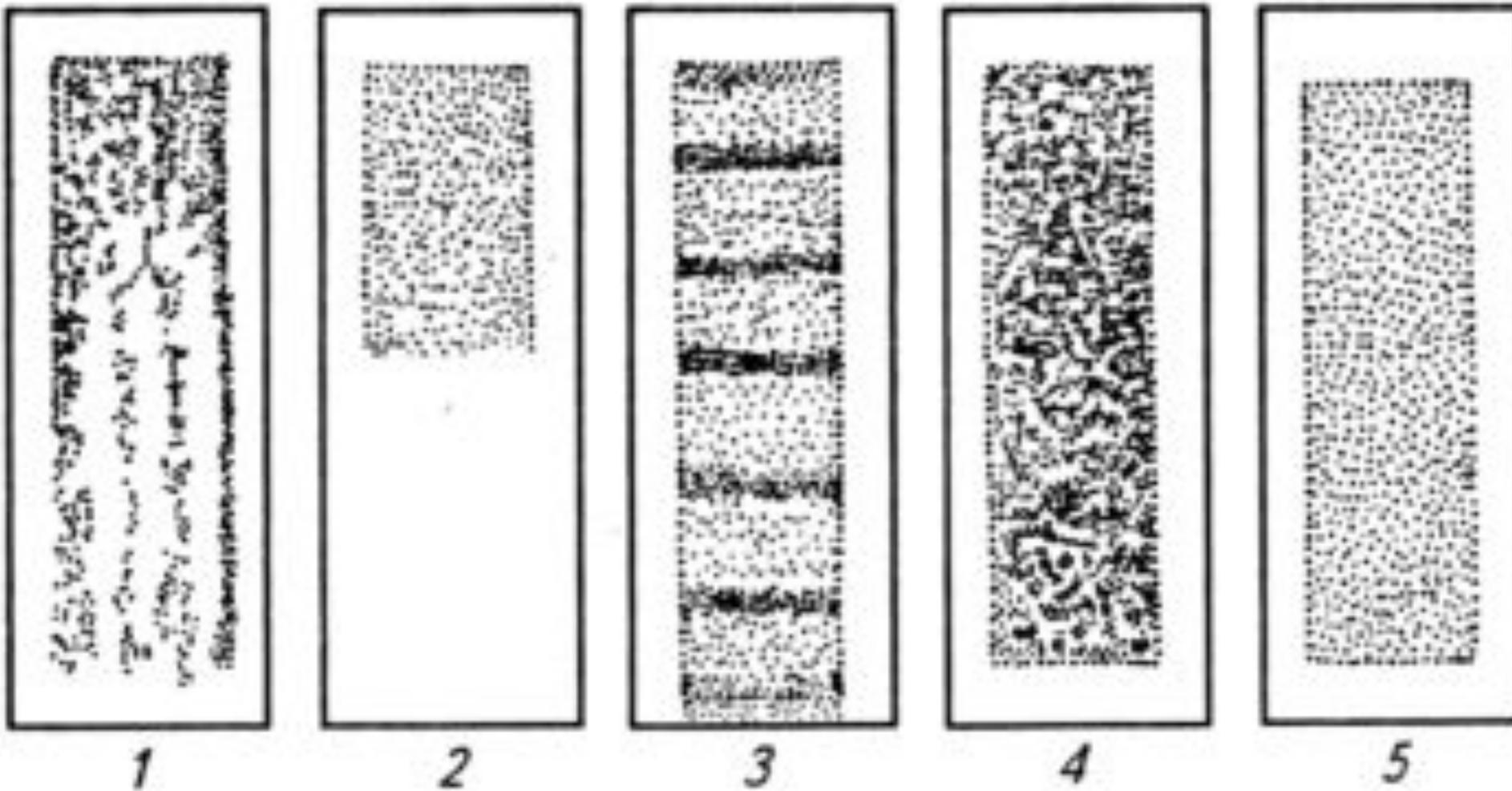
- Пробы крови для общего клинического анализа крови можно хранить 6-8 ч при комнатной температуре и 24 часа в холодильнике.

Подготовка стекол и окраска мазков крови

Техника приготовления мазка. Предметное стекло зажимают между большим и указательным пальцами левой руки (рис.). Отступив 1 см от края стекла, ближе к указательному пальцу, наносят каплю крови диаметром 2—3 мм. Это делают следующим образом: прикасаются поверхностью предметного стекла к капле крови, выступившей после прокола кожи, либо используют глазную или пастеровскую пипетку. Можно нанести каплю краем пробки, закрывающей пробирку. Затем правой рукой устанавливают вблизи от капли шлифованное стекло под углом 30—45° и осторожно продвигают до соприкосновения его края с каплей крови. С помощью коротких боковых движений распределяют кровь вдоль всего ребра шлифованного стекла, которое плавно продвигают справа налево по предметному



Хороший мазок должен быть совершенно ровным (без перерывов, пустот), однородным, достаточно длинным, но не доходить до краев стекла, оканчиваясь в виде бахромы и, кроме того, уже предметного



1 — приготовленный на плохо обезжиренном стекле; 2 — короткий; 3 — неравномерный; 4 — толстый; 5 — правильно приготовленный

- Приготовленный таким способом мазок высушивают на воздухе, либо в термостате.

Окраска мазков крови

- 1. Краситель фиксатор –эозин метиленовый синий по Майн –грюн = 1 мин
 - 2. Азур-эозин по Романовскому (10 мл на 250 мл воды) = 5 мин
 - 3. Промыть проточной водой.
 - 4. Высушить.
-
- Смена растворов производится 1 раз в неделю.

- 1. Медведева М.А. Клиническая ветеринарная лабораторная диагностика. Справочник для ветеринарных врачей. – М.: «Аквариум Принт», 2013. – 416 с.
- 2. https://studref.com/359738/pedagogika/sostav_kolichestvo_fiziko_himicheskie_svoystva_krovi

Стволовая клетка

- Гемопоз, кроветворение являются сложным и строго регулируемым процессом. В костном мозге все клетки крови берут начало в стволовых клетках. Полипотентные стволовые клетки производят несколько общих клеток-предшественников, которые затем дифференцируются на клетки эритроидного, гранулоцитарного, мегакариоцитарного и агрунолоцитарного (моноцитарного и лимфоидного) рядов. Конечным результатом этого процесса является выход в кровеносную систему эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов. При небольшом увеличении невозможно точно идентифицировать молодые ростки стволовых клеток костного мозга, но более поздние стадии идентифицировать можно.

