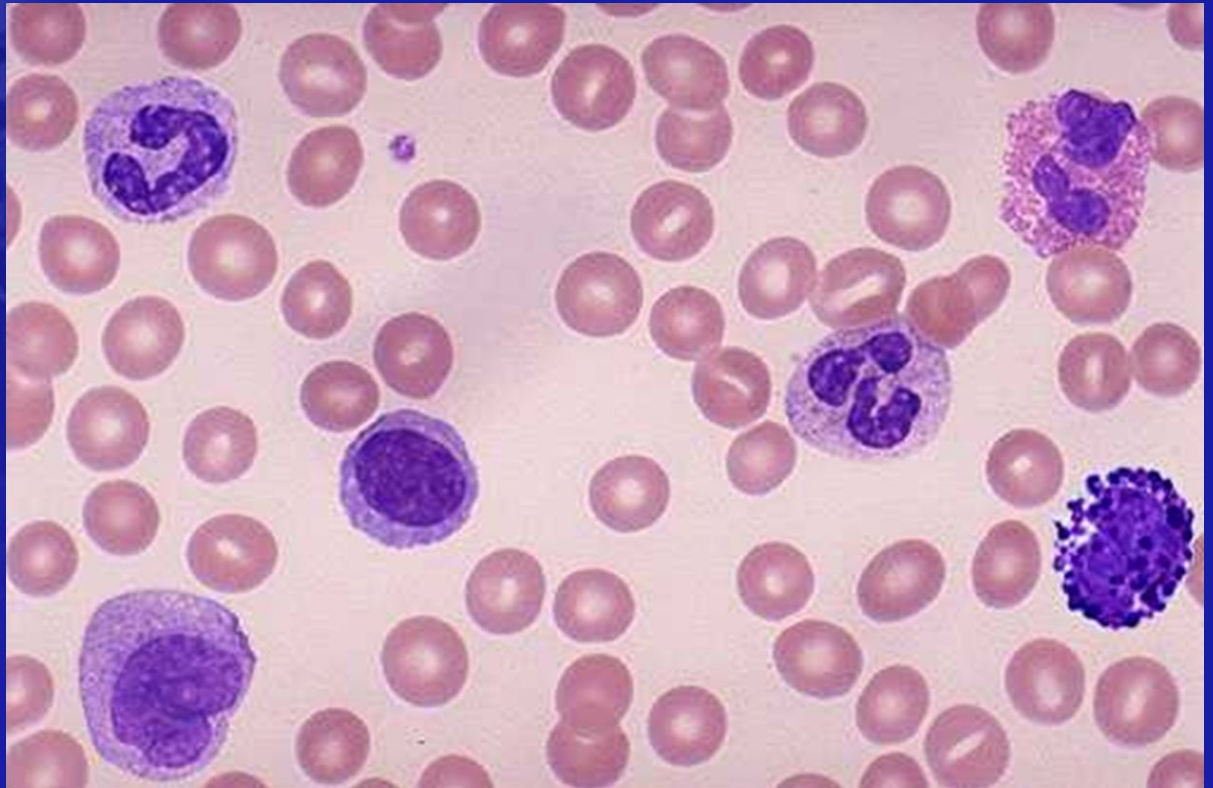
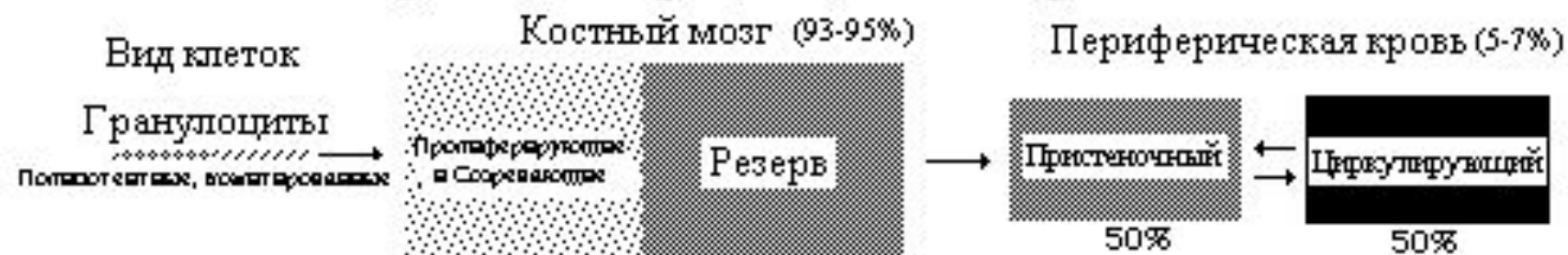


Реактивные изменения белой крови



Копылов Ю.Н.

Распределение гранулоцитов в организме



Возрастные нормы лейкоцитарной формулы крови

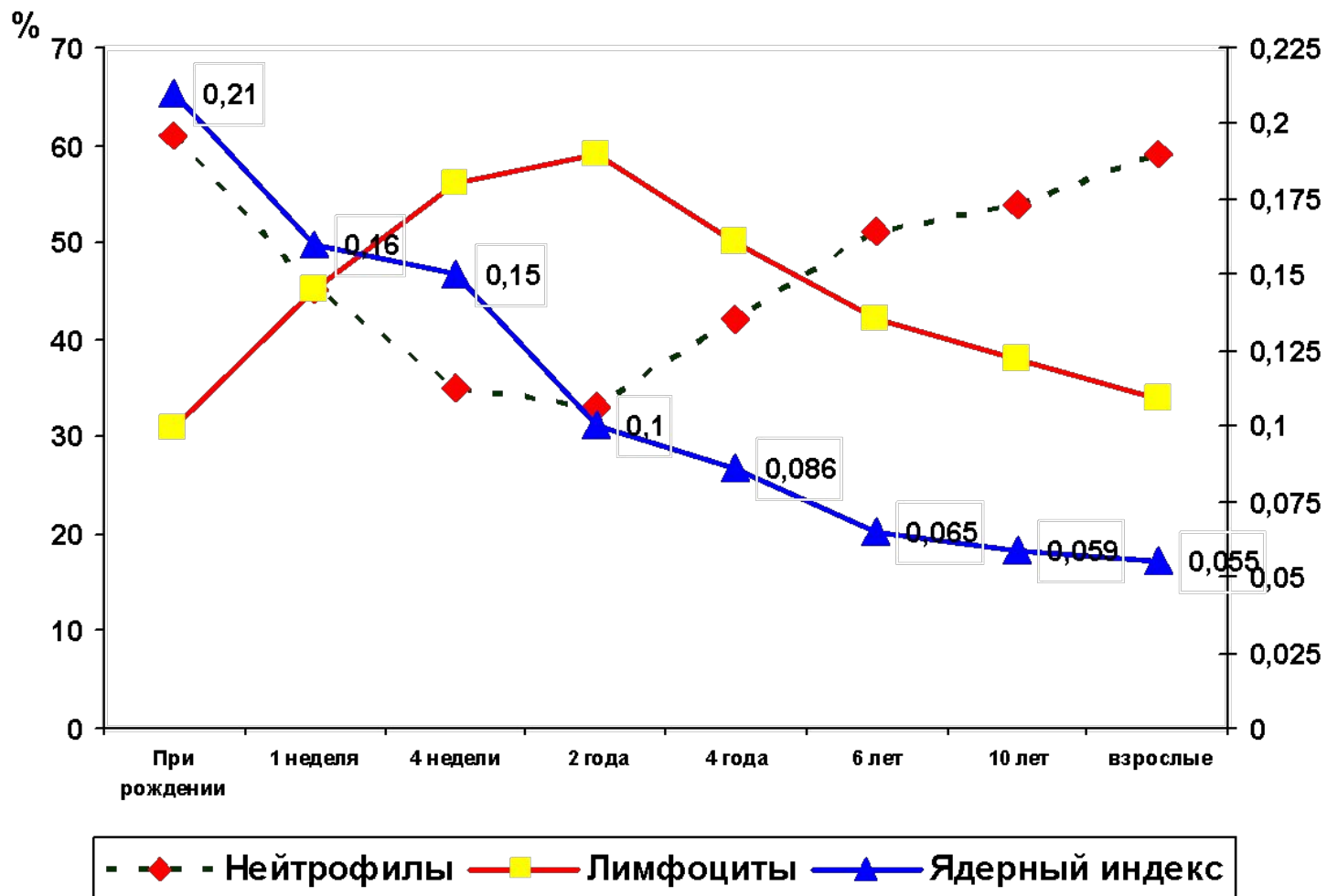
(величины даны как число клеток $\times 10^9/\text{л}$ или обозначены в процентах (%) от общего числа лейкоцитов)

Помните, у взрослого человека в состоянии физиологического покоя количество лейкоцитов в периферической крови составляет $5,0 - 7,0 \times 10^9/\text{л}$.

Нормальным количеством лейкоцитов для практически здорового взрослого человека принято считать $4,0 - 9,5 \times 10^9/\text{л}$

Возраст	Нейтрофилы		Эозинофилы		Базофилы	Лимфоциты	Моноциты
	Общие	Палочко-ядерные	Сегментоядерные				
При рождении	11.0 (6.0-26.0) 61%	1.65 9.1%	9.4 52%	0.40 (0.02-0.85) 2.2%	0.10 (0-0.64) 0.6%	5.5 (2.0-11.0) 31%	1.05 (0.4-3.1) 5.8%
1 неделя	5.8 (1.5-11.0) 45%	0.89 6.1%	6.3 39%	0.35 (0.07-0.90) 2.6%	0.05 (0-0.20) 0.5%	5.8 (2.3-14.5) 46%	0.90 (0.25-2.6) 6.2%
4 недели	3.8 (1.0-9.0) 35%	0.49 4.5%	3.3 30%	0.30 (0.07-0.90) 2.8%	0.05 (0-0.20) 0.5%	6.0 (2.5-16.5) 56%	0.70 (0.15-2.0) 6.5%
2 года	3.5 (1.5-8.5) 33%	0.32 3.0%	3.2 30%	0.28 (0.04-0.65) 2.6%	0.05 (0-0.20) 0.5%	6.3 (3.0-9.5) 59%	0.53 (0.05-1.0) 5.0%
4 года	3.8 (1.5-8.5) 42%	0.27 (0-1.0) 3.0%	3.5 (1.5-7.5) 39%	0.25 (0.02-0.65) 2.8%	0.05 (0-0.20) 0.6%	4.5 (2.0-8.0) 50%	0.45 (0-0.8) 5.0%
6 лет	4.3 (1.5-8.0) 51%	0.25 (0-1.0) 3.0%	4.0 (1.5-7.0) 48%	0.23 (0-0.65) 2.7%	0.05 (0-0.20) 0.6%	3.5 (1.5-7.0) 42%	0.40 (0-0.8) 4.7%
10 лет	4.4 (1.8-8.0) 54%	0.24 (0-1.0) 3.0%	4.2 (1.8-7.0) 51%	0.20 (0-0.60) 2.4%	0.04 (0-0.20) 0.5%	3.1 (1.5-6.5) 38%	0.35 (0-0.8) 4.3%
Взрослые	4.4 (1.8-7.7) 59%	2.2 (0-0.7) 3.0%	4.2 (1.8-7.0) 56%	0.20 (0-0.45) 2.7%	0.04 (0-0.20) 0.5%	2.5 (1.0-4.8) 34%	0.30 (0-0.8) 4.0

Зависимость содержания нейтрофилов и лимфоцитов от возраста (в%)



Лейкоцитарный концентрат

Выявление вероятных патологических факторов в периферической крови может быть определено путем подготовки концентрированной фракции ядерных элементов крови («лейкоцитарная пленка»). Когда присутствует лишь небольшое число незрелых клеток или аномальных клеточных элементов, то они не могут быть обнаружены. В таких случаях их идентификация возможна с помощью обычных мазков крови или исследования лейкоцитарного концентрата.

Показания для определения лейкоцитарного концентрата:

- При панцитопении без видимой причины (обнаруживаются незрелые или аномальные клетки).
- При лейкопенической лейкемии (обнаруживаются бластные формы).
- Лейкоэритробластная картина (определяются миелоидные предшественники эритробластов, фрагментов мегакариоцитов).
- Макроцитарная анемия (определяются мегалобласты (эритроядерные предшественники) и гиперсегментарные гранулоциты).
- Множественная миелома (наличие плазматических клеток).
- Лейкемия волосковых клеток (определение волосковых клеток).
- При подозрении на онкопатологию (наличие циркулирующих опухолевых клеток).
- Наличие внутрileyкоцитарных паразитов или бактерий.

Метод определения

Первоначально проводят микроскопическое исследование на малой мощности (объектив с 20-кратным увеличением), затем — в объективе с 100-кратным увеличением и иммерсией. Тщательно исследуются края и бахрома мазка, где часто собираются миелоидные предшественники (миелоциты, промиелоциты, бласты) и эритробласты

При осложненном течении гнойно-воспалительных процессов весьма показательным изменением лейкоцитарного индекса интоксикации (ЛИИ), рассчитываемого по формуле

$$\text{ЛИИ} = \frac{(4\text{Ми} + 3\text{Ю} + 2\text{П} + \text{С}) (\text{Пл} + 1)}{(\text{Мон} + \text{Лимф}) (\text{Э} + 1)},$$

где Ми — миелоциты; Ю — юные, П — палочкоядерные, С — сегментоядерные нейтрофилы; Пл — плазматические клетки; Мон — моноциты; Лимф — лимфоциты; Э — эозинофилы.

В норме ЛИИ равен 0,3 — 1,5 ед.

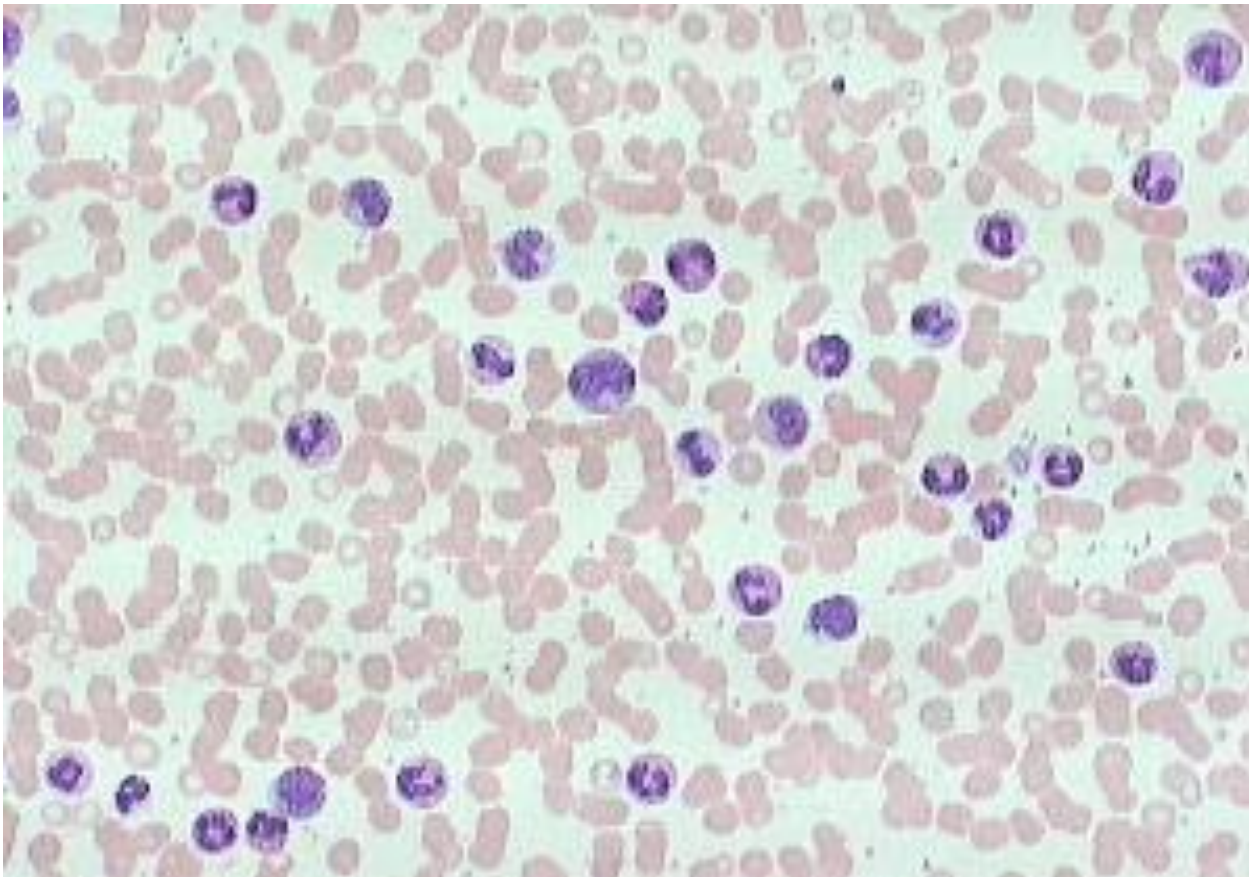
ЛИИ больше 1,5 свидетельствует об интоксикации организма, а свыше 4 — 5 — о выраженном бактериальном компоненте в эндогенной интоксикации.

ЛИИ используется для оценки степени бактериальной интоксикации и эффективности проводимой антибактериальной терапии. Определение ЛИИ возможно лишь при обнаружении в крови отдельных клеток, не встречающихся в норме. К их числу относятся плазматические клетки, незрелые гранулоциты, молодые лимфоциты и некоторые другие

Лейкемоидная реакция характеризуется появлением бластных клеток, промиелоцитов, миелоцитов и метамиелоцитов в периферической крови.

Лейкемоидная реакция может являться гиперрегенераторным ответом на инфекцию или свидетельствовать о начинающемся злокачественном заболевании.

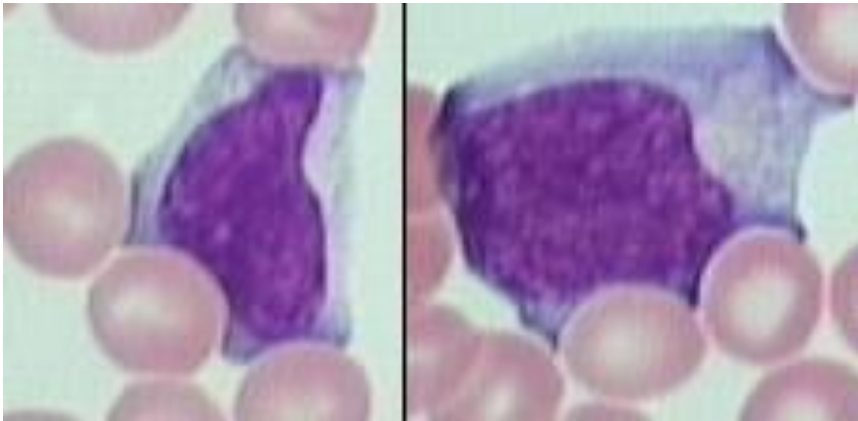
Число лейкоцитов часто в пределах $50.0-100.0 \times 10^9/\text{л}$.



Инфекционный мононуклеоз - болезнь обычно самоограниченная и вызвана вирусом Епштейн-Барра, поражающего В-лимфоциты. В течение второй недели заболевания наблюдается пролиферация активированных Т-супрессоров .

Это CD8 положительные цитотоксические Т-супрессоры, которые мы видим в периферической крови, которые уничтожают инфицированные В-лимфоциты. Атипичные лимфоциты большие, с большим количеством базофильной цитоплазмы. Некоторые могут быть похожими на бластные клетки. Подобные изменения не специфичны для инфекционного мононуклеоза и могут наблюдаться при других вирусных инфекциях.

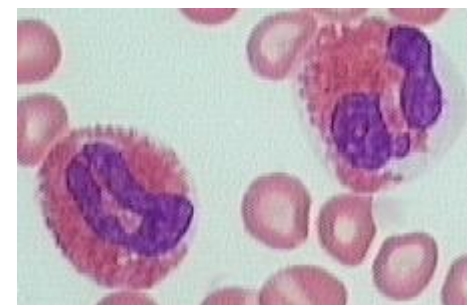
Инфекционный мононуклеоз наиболее часто наблюдается у детей и в молодом возрасте. У больных наблюдается лихорадка, боль в горле и лимфаденопатия (часто на шее). Спленомегалия обычно присутствует. Цитомегаловирусная инфекция иногда сопровождается лимфоцитозом с симптомами похожими на инфекционный мононуклеоз и может следовать за переливанием крови.



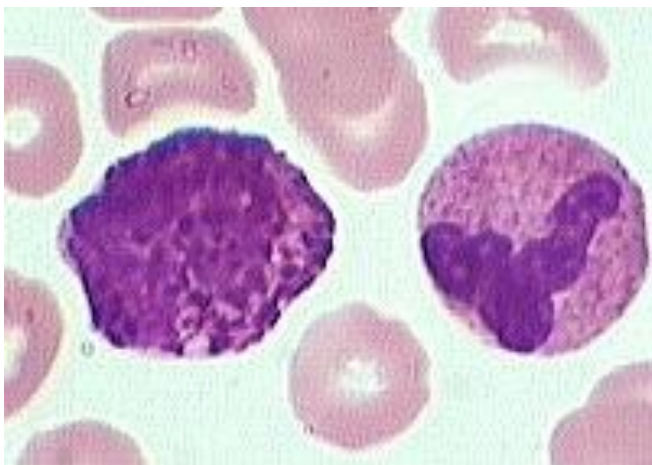
Эозинофилия - увеличение количества эозинофилов в периферической крови $> 0.35 \times 10^9/\text{л}$ наблюдается при различных иммунологических нарушениях и способствует инактивации IgE-опосредованных реакций гиперчувствительности немедленного типа.

- аллергические заболевания - бронхиальная астма, сезонные риниты экзема, атопические дерматозы и др..
- паразитарные заболевания - трихинеллез, эхинококкоз, шистозоматоз. ГОБ (главный основной белок), выделяющийся из эозинофильных гранул, обволакивая организм паразитов, оказывает цитотоксическое действие, дополняя антитело-комплемент зависимый киллинг.
- другие инфекции - скарлатина, туберкулез, лепра
- синдром Лёффлера
- инфильтрация легких с эозинофилией
- индуцированная лекарствами - сульфаниламиды, антибиотики, гликозиды, нитрофураны
- новообразования - хронический миелолейкоз, опухоли, (особенно вовлекающие серозные оболочки, иногда болезнь Ходжкина).

Присутствие большого количества эозинофилов в биологическом материале (например в мокроте) может приводить к образованию кристаллов Шарко-Лейдена.



Базофилия - увеличение количества базофилов в крови $> 0.2 \times 10^9/\text{л}$. Наблюдается при аллергических реакциях при хроническом миелоидном лейкозе. Увеличение количества базофилов связано с Истинной полицитемией (болезнь Вакеза) и экстрамедуллярным кроветворением. Базофилия наблюдается при гипотиреозе, а также в момент овуляции у женщин.



Гиперсегментация, наличие слишком большого количества сегментов ядра - один из первых гематологических признаков мегалобластической анемии.

Нормальные зрелые нейтрофилы, циркулирующие в периферической крови, имеют 3-4 сегмента и никогда 5. Эозинофилы не имеют больше 4 сегментов, а базофилы больше 3.

Присутствие более 3-х клеток, имеющих 5 сегментов, или одной клетки с 6-ю сегментами на 100 сосчитанных клеток свидетельствует о гиперсегментации.

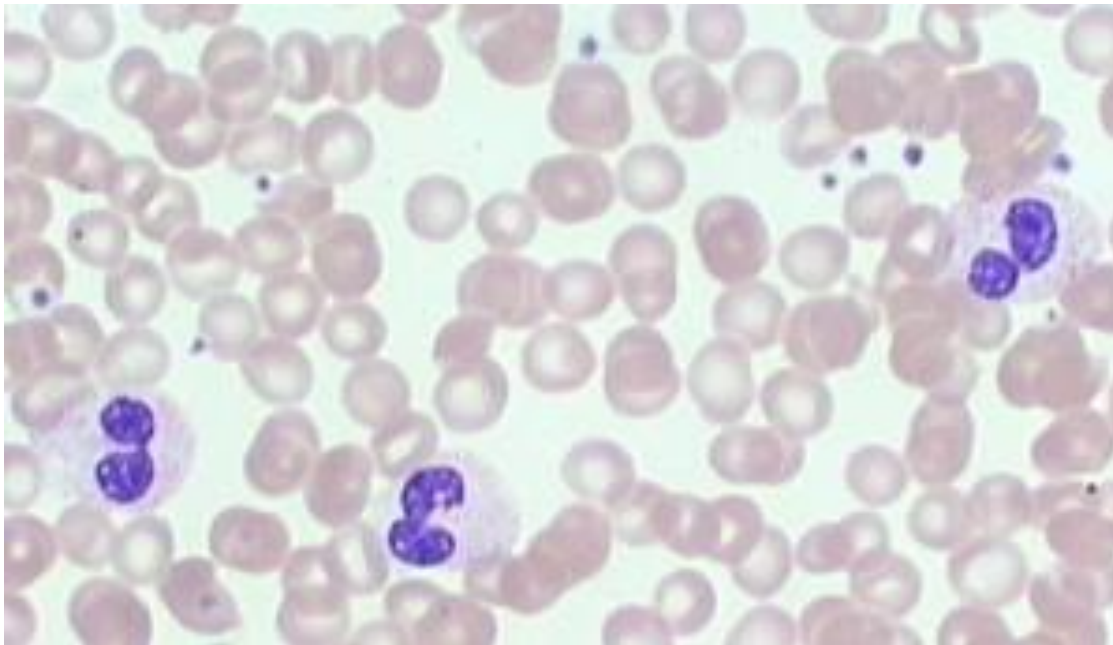
Гиперсегментация иногда сопровождается миелоидный "сдвиг вправо".

Гиперсегментация может наблюдаться и при других нарушениях созревания клеток (миелодиспластический синдром, дефицит железа).

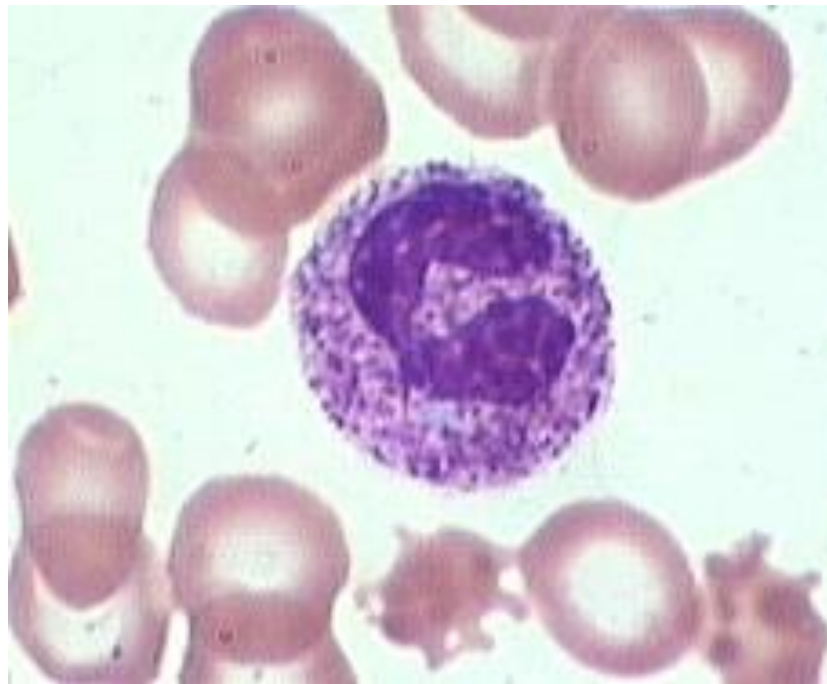


Аномалия Пельгера-Хьюета является признаком, наследуемым по аутосомно-доминантному принципу, при котором гранулоциты утрачивают способность нормально сегментироваться. У гомозигот ядра круглые. У гетерозигот большинство гранулоцитов имеют по два сегмента (типа "гантели", "пенсне"). Признак встречается 1: 6,000 населения. Функция клеток нормальная.

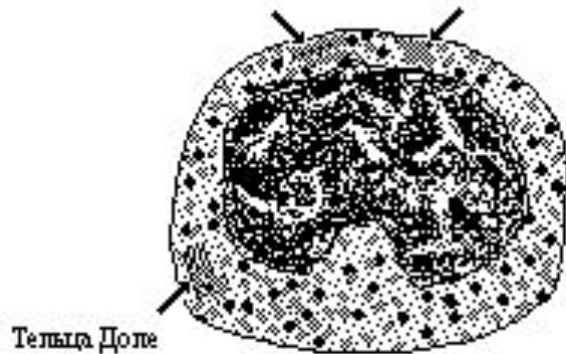
Приобретенная или псевдопельгеровская аномалия наблюдается при миелодиспластическом синдроме, как следствие лекарственной терапии, может сопровождать лейкемии и некоторые инфекции.



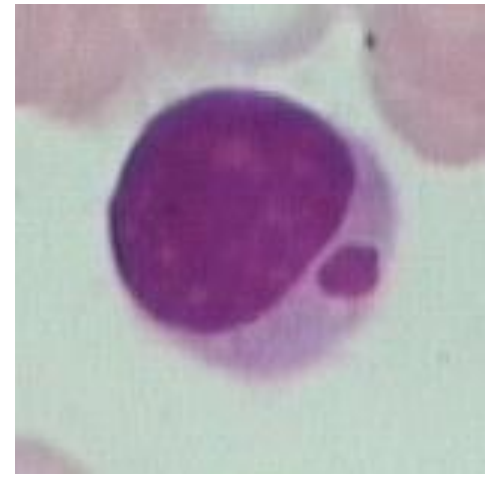
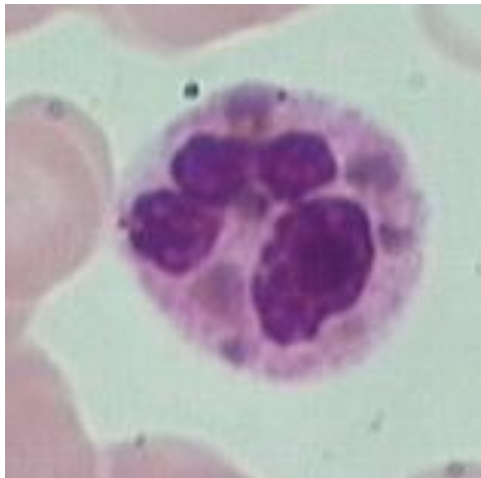
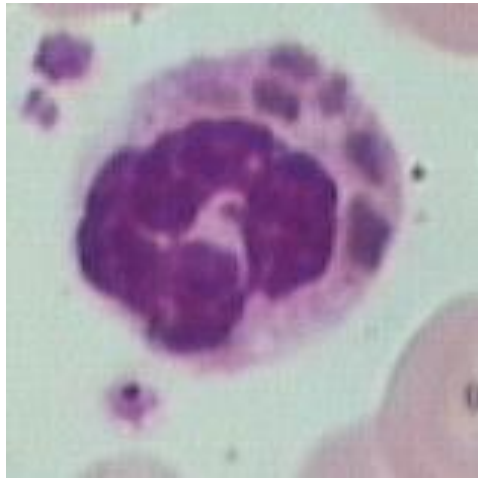
Токсическая зернистость выявляется при выраженных воспалительных заболеваниях. Азурофильные токсические гранулы обычно находят в промиелоцитах, метамиелоцитах, палочкоядерных и сегментоядерных клетках. Считается, что токсическая зернистость появляется вследствие нарушения созревания цитоплазмы в условиях быстрого увеличения образования гранулоцитов.



Тельца Доле представляют собой единичные или множественные голубые включения в цитоплазме. Они представляют собой остатки грубого эндоплазматического ретикулума более ранних стадий созревания. Они связаны с нейтрофильным "сдвигом влево" и наблюдаются в сочетании с токсической зернистостью.

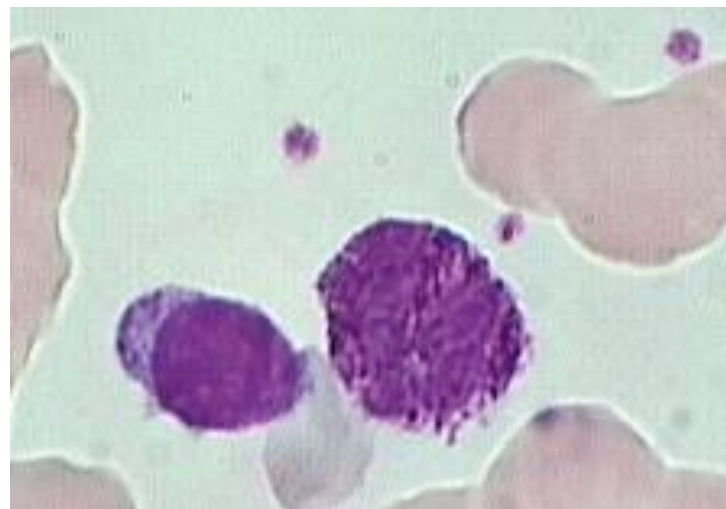
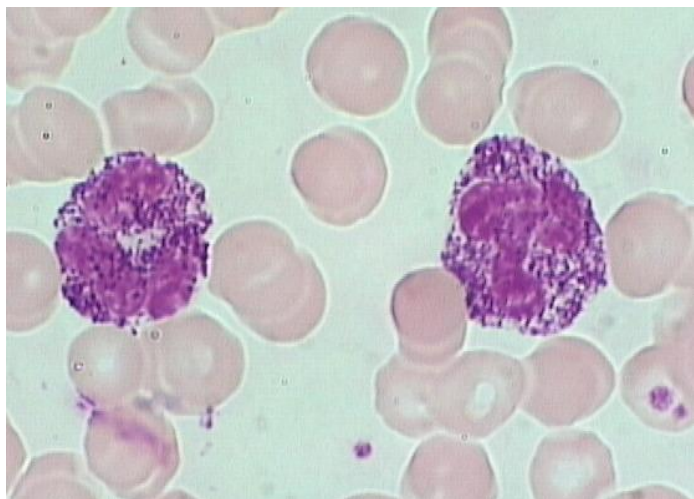


Синдром Чедиака-Хигаси является **редкой аутосомно-рецессивной аномалией**, характеризующейся наличием необычно крупных гранул в лейкоцитах, являющихся скоплениями лизосом. Это аномалия может наблюдаться в гранулоцитах и моноцитах. Хемотаксис и фагоцитоз нарушен. В тромбоцитах развивается дефицит плотных гранул и функция их нарушена. Наличие гигантских меланосом в коже и глазах проявляется гипопигментацией.



Анималия Альдера-Рейли связана с **генетическим мукополисахаридозом**.

Пациенты с мукополисахаридозом испытывают недостаток лизосомальных ферментов, необходимых для метаболизма мукополисахаридов. Плотные азурофильные гранулы, похожие на токсическую зернистость в нейтрофилах, наблюдаются во всех лейкоцитах. Наиболее характерным из этих нарушений являются метакроматические гранулы, окруженные зоной просветления заметной в лимфоцитах.



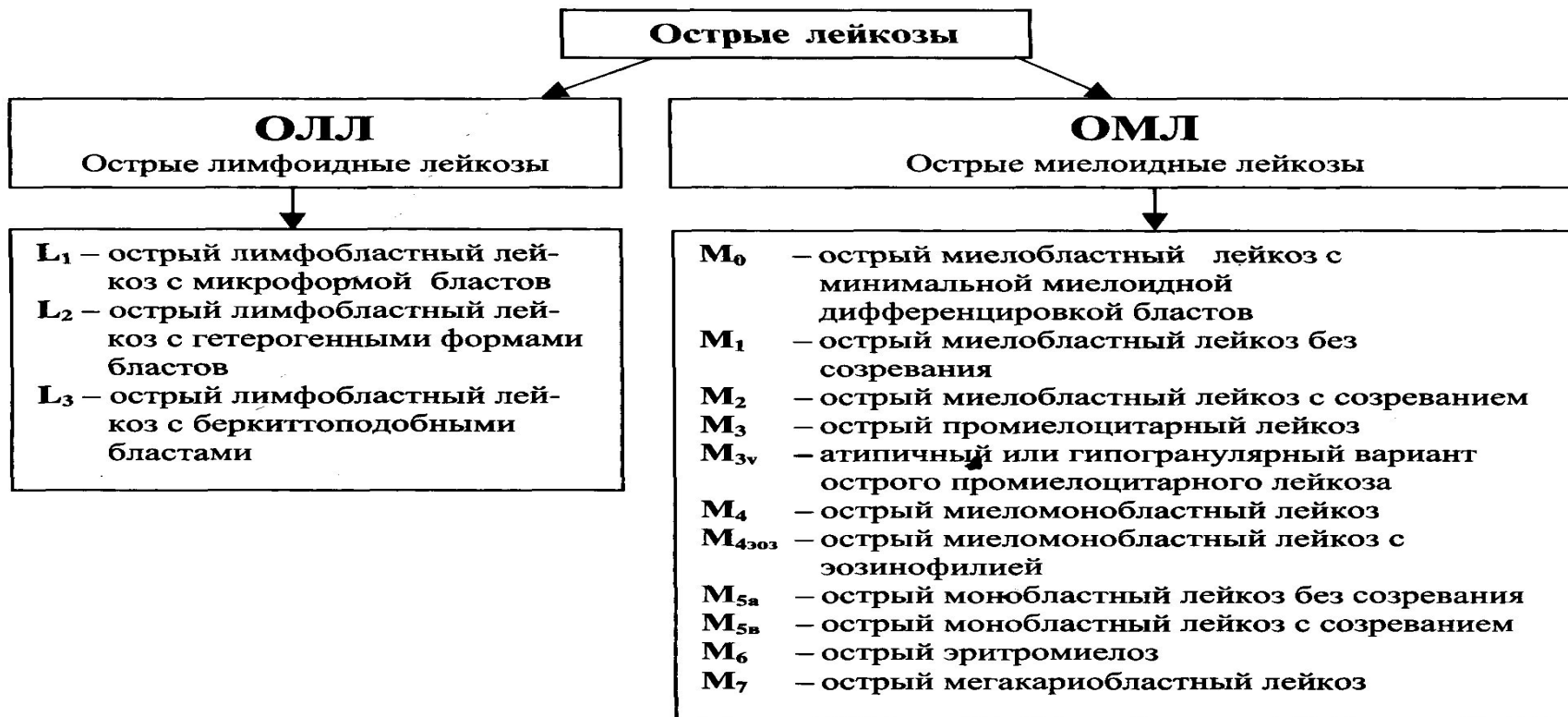
ЛЕЙКОЗЫ



Гематологические признаки лейкозов

1. Появление бластных (способных к делению) клеток в периферической крови.
2. Выраженное изменение количество лейкоцитов в периферической крови.
Лейкоцитозы $> 25000 \cdot 10^9/\text{л}$
Лейкопении $< 3,0 \cdot 10^9/\text{л}$
3. Наличие анемии или тромбоцитопении на фоне вышеперечисленных изменений
4. Появление очагов экстрамедуллярного кроветворения
5. Появление признаков гиперплазии кроветворного аппарата (появление болей в плоских костях, выраженная спленомегалия, появление пакетов лимфоузлов не спаянных с окружающей тканью)

Варианты острых лейкозов

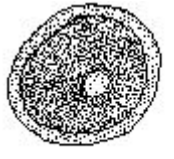
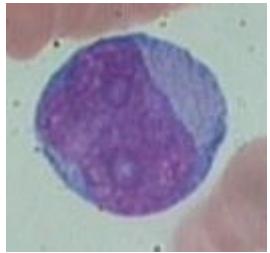
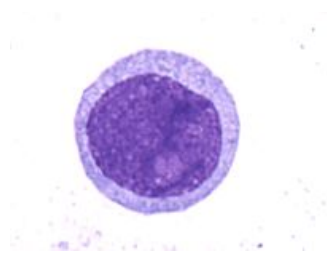


Acute lymphoblastic leukemia (ALL)*	
L-1	85% #
L-2	14%
L-3	(Burkitt's) 1% # childhood

M0 Acute nonlymphocytic (ANLL)	% у взрослых
M1 Myeloblastic (AML)	10-20%
M2 AML with differentiation	30-40%
M3 Promyelocytic (APML)	10-15%
M4 Myelomonocytic (AMML, Naegeli)	10-15%
M5a Monoblastic (AMoL, Schilling)	10-15%
M5b AMoL with differentiation	<5%
M6 Erythroleukemia (Di Guglielmo)	<5%
M7 Megakaryoblastic	<5%
Other (e.g. biphenotypic)	<5%

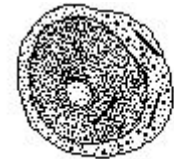
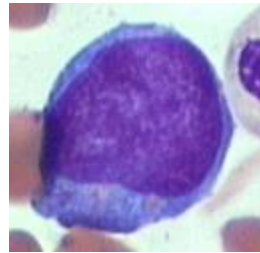
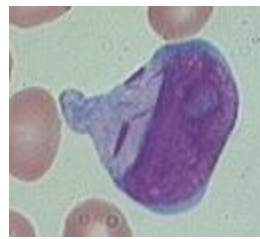
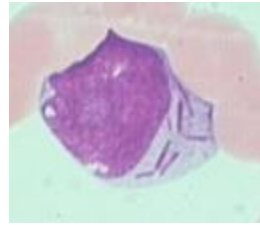
Принципы исследования лейкозов включают:

- **Морфология**
периферический мазок крови
аспират костного мозга и биопсия
- **Цитохимия**
- **Генетические хромосомные и молекулярные исследования**
- **Иммунология**



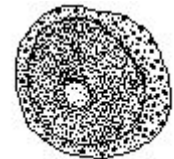
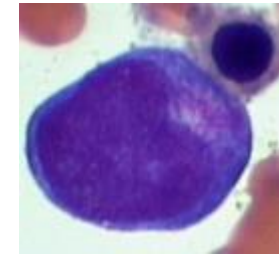
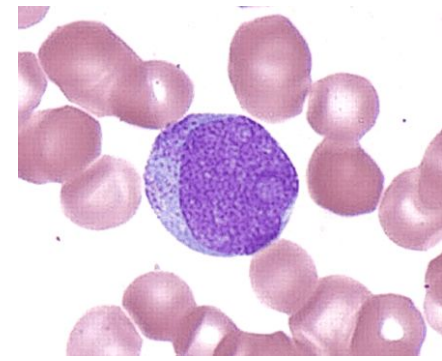
Myeloblast Type I

Нет азурофильных гранул.
Палочек Ауэра нет.



Myeloblast Type II

Мало (<20) азурофильных гранул.
Могут присутствовать палочки Ауэра.



Myeloblast Type III

Figure 1. Type III blasts may have numerous azurophilic granules but lack a discernible Golgi zone.

>20 азурофильных гранул без зоны Гольджи
Могут присутствовать палочки Ауэра.

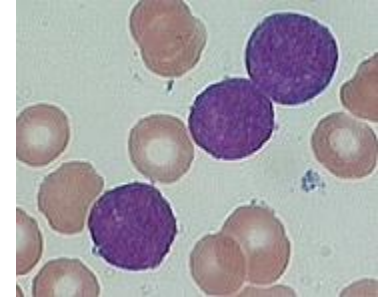
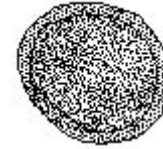
Острая микролимфобластная лейкемия - L1

Морфология: L1 бласты являются маленькими и гомогенными. Ядра - округлые и обычно с небольшими и неприметными нуклеолами.

Цитоплазма скудна и обычно без вакуолей.

Окраска: МРО всегда отрицателен.

Созревание: Большинство L1 ALLs имеет про В или пре В происхождение.

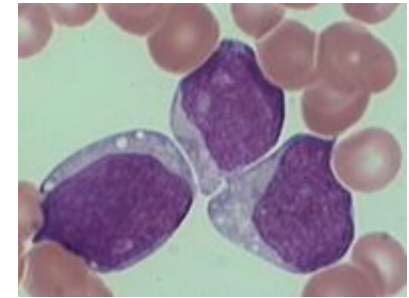


Острая макролимфобластная Лейкемия - L2

Морфология: L2 бласты являются большими и гетерогенными. Ядра часто неправильной формы. Обычно присутствуют одна или две нуклеолы. Объем цитоплазмы является переменным, но часто обильным и может содержать вакуоли.

Созревание: L2 ALLs может иметь про В или пре В происхождение, но в случае Т-клеточного ALL, они более вероятно, будут иметь L2 чем L1 морфологию.

Окраска: L2 бласты может иметь гранулированную или диффузную PAS позитивность с отрицательным цитоплазматическим фоном. NSE обычно отрицателен. МРО всегда отрицателен

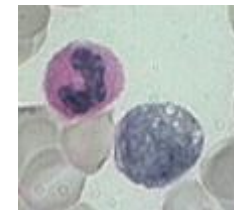
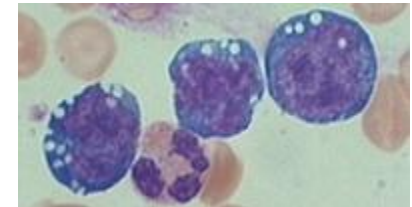
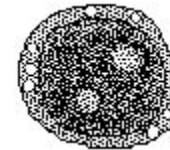


Острая Лимфобластная Лейкемия - L3 (лейкемия Беркитта)

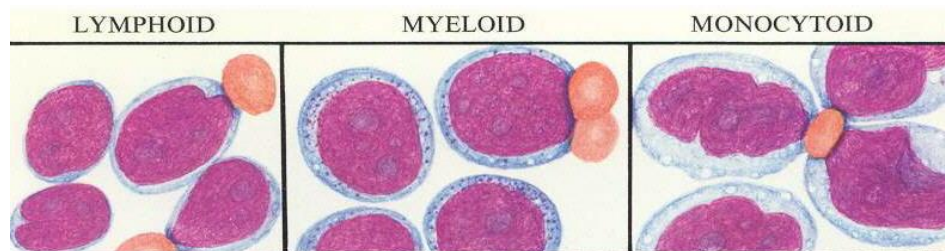
Морфология: L3 бласты являются умеренно-большими в размере и гомогенными. Ядра правильны и кругло-овальные в форме. Рисутствуют одна или более заметные нуклеолы. Объем цитоплазмы умерен и содержит заметные вакуоли.

Окраска: МРО всегда отрицателен. NSE отрицателен, но может показать центральную цитоплазматическую положительность. Вакуоли PAS отрицательные (в центре), но классически позитивны для нейтральных липидов, окраска масляным красным О (справа).

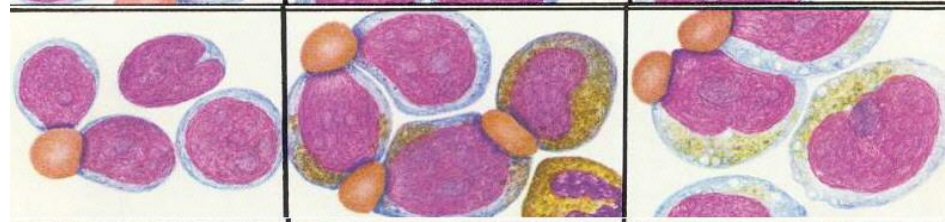
Все L3 лейкемии - поверхностный иммуноглобулин (SIg) позитивный и имеют В клеточной происхождение.



Норма



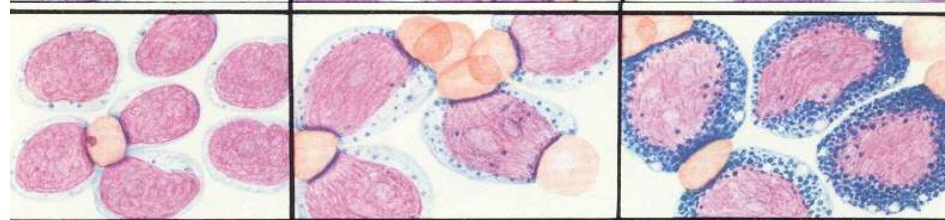
Окраска на Миелопероксидазу



Окраска на гликоген



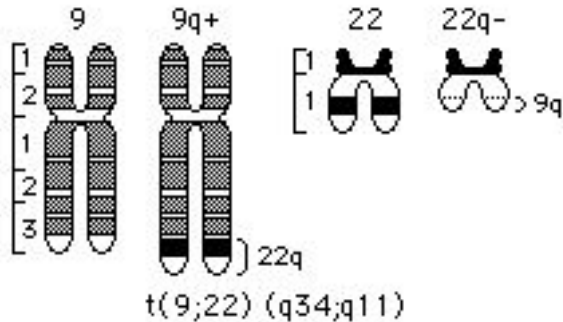
Окраска на неспецифическую
α-нафтол-эстеразу



Окраска на неспецифическую эстеразу
с обработкой фторидом натрия



Некоторые хромосомные нарушения при лейкозах



Филадельфийская хромосома

Хромосомные нарушения	Лейкозы
t(8;21)	M2
t(15;17)	M3 - rх ретиноевая кислота
inv, del, t(16q)	M4
t(9;11)	M5 (частично M5a); M4
t(9;22) - Филадельфийская хромосома	CML
t(1;19)	ALL-preB
t(11;14)	ALL-T
t(8;14), t(2;8), t(8;22)	ALL-Лимфома Бёркита

Иммунологическая характеристика ОМЛ

	M ₀	M ₁ /M ₂	M ₃	M ₄	M ₅	M ₆	M ₇
МПО	+/-	+	+	+	-/+	-/+	-
CD13	+/-	+	+	+	+/-	-	+/-
CD14	-	-	-	+/-	+/-	-	-
CD15	-	+/-	-/+	+/-	+	-	-
CD33	+/-	+/-	+	+	+	+	+
CD34	+/-	+/-	-	-/+	-	-	-
CD41	-	-	-	-	-	-	+
CD61	-	-	-	-	-	-	+
GlycophorinA	-	-	-	-	-	+	-
HLA-DR	+/-	+	-	+	+	-	+

Примечание:

- экспрессия антигена отрицательная;
 - /+ экспрессия антигена в менее 50% случаев;
 - +/- экспрессия антигена в более 50% случаев;
 - + экспрессия антигена положительная;
- МПО – миелопероксидаза.

Иммунологическая классификация ОЛЛ (EGIL, 1995)

Фенотип	Антигены
<i>В-линейные*</i>	
В-I (про-В) ОЛЛ	CD19+ и/или CD79+ и/или CD22+
В-II (common) ОЛЛ	CD10+
В-III (пре-В) ОЛЛ	Цитоплазматическая μ -цепь+
В-IV (зрелый-В) ОЛЛ	Цитоплазматические и поверхностные κ - и λ -цепи Ig+
*Позитивные с двумя из трех маркеров	Большинство случаев Tdt+, HLA-DR+, кроме В-IV, который часто Tdt-
<i>Т-линейные**</i>	Цитоплазматический/мембранный CD3+
Т-I (про-Т) ОЛЛ	CD7+
Т-II (пре-Т) ОЛЛ	CD2+ и/или CD5+ и/или CD8+
Т-III (кортикальный Т) ОЛЛ	CD1a+
Т-IV (зрелый -Т) ОЛЛ	Мембранный CD3+, CD1a-
**Большинство случаев Tdt+, HLA-DR-, CD34-, но эти маркеры не всегда учитываются в диагностике и классификации.	

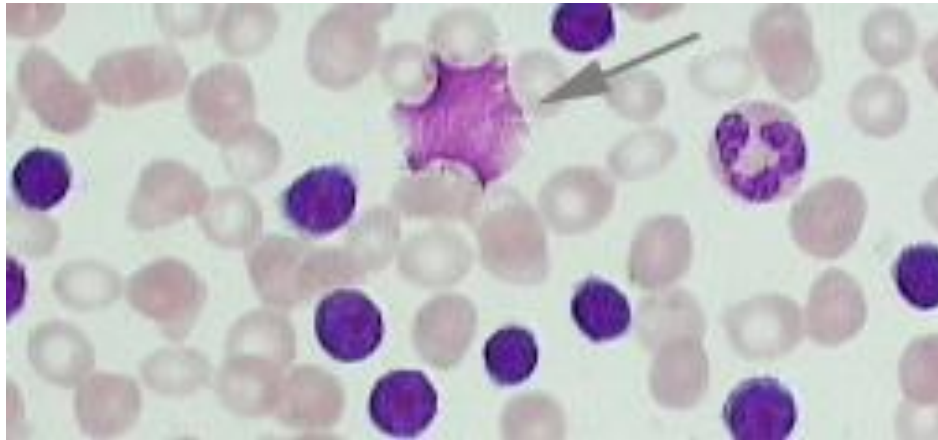
МИЕЛОПРОЛИФЕРАТИВНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

- хронический миелолейкоз;
- сублейкемический миелоз (миелофиброз, остеомиелосклероз);
- эритремия (истинная полицитемия);
- хронический миеломоноцитарный лейкоз;
- хронический моноцитарный лейкоз;
- хронический мегакариоцитарный лейкоз (идиопатическая тромбоцитемия).

ЛИМФОПРОЛИФЕРАТИВНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

- Хронический лимфолейкоз
- Волосатоклеточный лейкоз
- Лимфома селезенки с ворсинчатыми лимфоцитами (В-клеточная лимфома маргинальной зоны селезенки)
- Т-пролимфоцитарный лейкоз
- Лейкоз из больших гранулярных лимфоцитов
- Миеломная болезнь (множественная миелома, болезнь Рустицкого-Калера)
- Острый плазмобластный (плазмоклеточный) лейкоз
- Макроглобулинемия Вальденстрема
- Болезни тяжелых цепей

Хронический лимфоидный лейкоз



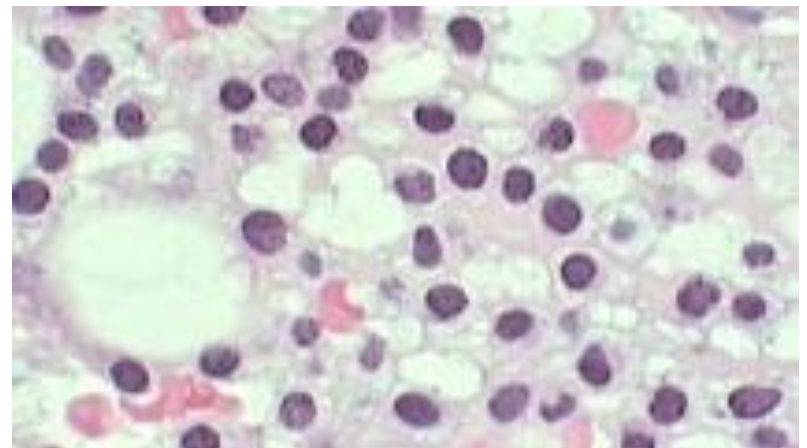
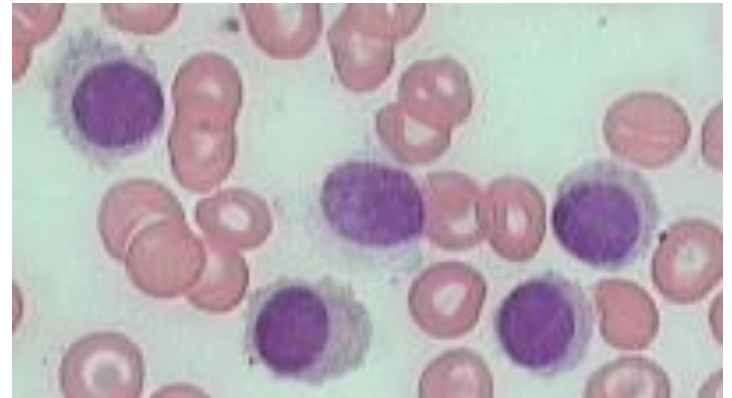
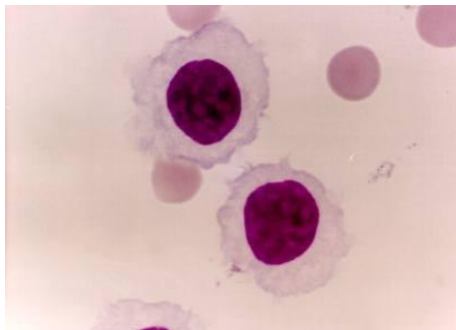
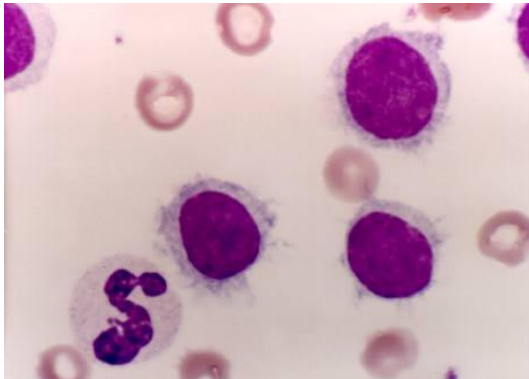
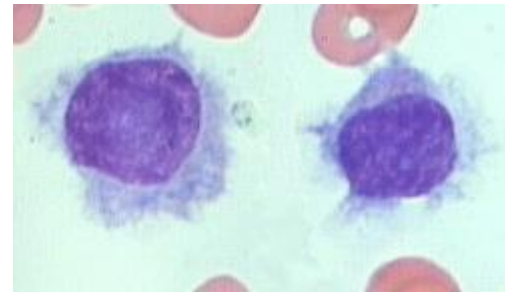
Эпидемиология: Хронический лимфоидный лейкоз – наиболее частое из всех лимфопролиферативных заболеваний и составляет около 30% всех лейкозов. Болеют в основном взрослые люди >60 лет

Симптоматика: В начальных стадиях часто бессимптомное заболевание и выявляется при обычном обследовании. Наиболее характерным является увеличение количества лимфоцитов в периферической крови (редко $>5.0 \times 10^9/\text{л}$, обычно $>15.0 \times 10^9/\text{л}$ и иногда $>100.0 \times 10^9/\text{л}$). Могут появляться тельца Боткина-Гумпрехта. Накопление количества лимфоцитов приводит к развивающимся позднее лимфаденопатии, гепато-спленомегалии.. Присоединяющиеся анемия и тромбоцитопения(тромбоцитоз), как правило, свидетельствуют об аутоиммунном повреждении костного мозга

Волосатоклеточный лейкоз

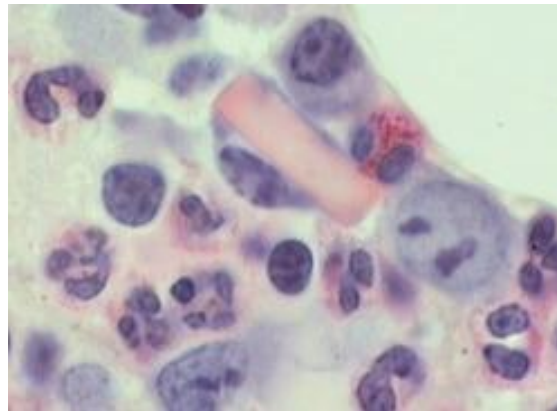
Морфология клеток: Большое количество цитоплазмы у лимфоцитов создает внешний вид «жареного яйца (яичницы)» для каждой клетки.

В костном мозге при биопсии наблюдаются своеобразные участки разрежения «соты» (справа/снизу). Стернальные пунктаты костного мозга обычно «сухие» из-за повышенного разрастания соединительной ткани



Миеломная болезнь

Плазматические клетки в костном мозге могут быть зрелые - с классическим внешним видом плазматических клеток или незрелые - с выраженными нуклеолами. Можно увидеть двухядерные и многоядерные плазматические клетки. Массы иммуноглобулинов могут образовывать внутриклеточные глобулы или тельца Рассела.

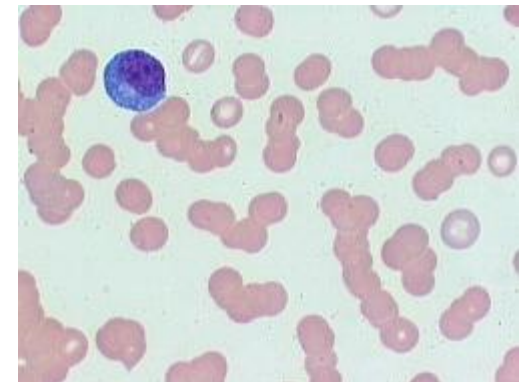
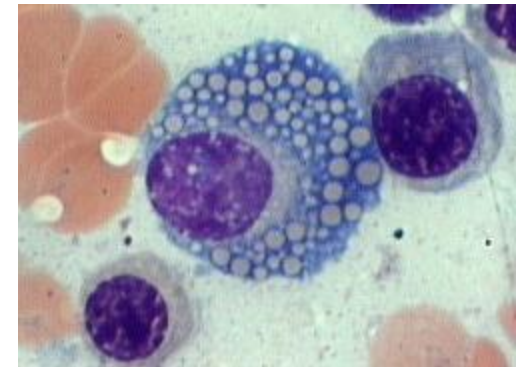


Избыток Ig в периферической крови может привести к образованию «монетных столбиков» в которых эритроциты покрытые иммуноглобулинами склеиваются вместе (напоминающие перекрывающиеся копейки).

Вторично может быть увеличено СОЭ.

Гипервязкость крови является наиболее распространенным признаком избытка IgM, но может быть связана и с полимеризацией IgA и IgG3. М-белки могут мешать факторам свертывания крови и полимеризации фибрина и может блокировать агрегацию тромбоцитов.

Клетки, содержащие множество иммуноглобулиновых глобул, известны как клетки Мотта.





Благодарю за внимание!

