

ЛЕЙКОЗЫ

- □ Лейкозы опухолевые клональные заболевания кроветворной системы с первичным поражением костного мозга.
- Мишенью опухолевой трансформации являются стволовые кроветворные клетки или коммитированные клеткипредшественники.

- Все лейкозы, как острые, так и хронические, имеют клоновый характер роста, т.е.происходят из одной клетки, подвергшейся мутации.
- □ Патологический клон клеток при лейкозах происходит из лейкемической стволовой клетки, которая во многом повторяет свойства нормальной стволовой клетки, т.е. имеет высокий пролиферативный потенциал и способность к самообновлению.

□ Причиной лейкозов служат мутации в полипотентных или более ранних стволовых клетках. Рост и развитие мутантных клеток приводит к образованию лейкозных клеток и снижению продукции эритроцитов, нейтрофилов, тромбоцитов и др. нормальных клеток крови.

□ По мере размножения мутантных клеток и угнетения нормального гемопоэза они попадают в кровоток и проникают в органы ретикулоэндотелиальной системы, включая селезенку и лимфоузлы, печень, а иногда и в ЦНС.

- □ Предшественникам лейкозных клеток свойственны атипичные рост и созревание.
- □ Клоны мутантных клеток могут обладать уникальными морфологическими, цитохимическими и иммунофенотипическими характеристиками, которые используют для диагностики формы лейкоза.

- □ Начальный этап диагностики лейкозов включает:
- определение начала появления симптомов
- □ оценка результатов общего анализа крови
- □ определение типа преобладающих клеток
- оценка степени зрелости преобладающих клеток

- □ При исследовании мазков крови обычно выявляется снижение числа эритроцитов и тромбоцитов.
- □ Выраженность анемии и тромбоцитопении обычно выше при острых лейкозах.
- □ Отличительными признаками хронических лейкозов являются лейкоцитоз и выраженная спленомегалия.

- □ Лейкозные клетки, присутствующие в крови и костном мозге, могут относиться к миелоидному или лимфоидному ряду.
- Клетки миелоидного ряда включают гранулоциты, моноциты, мегакариоциты и эритроциты.
- □ Поэтому миелоидные лейкозы проявляются пролиферацией любого из этих 4-х типов клеток на любой стадии дифференцировки.

□ Лимфоидные клетки — предшественницы дают начало только лимфоцитам.

Острые лейкозы

Острые лимфобластные лейкозы регистрируются в 80% случаев у детей и только в 20% - у взрослых.

- □ На долю острых миелоидных лейкозов приходится 15-20% у детей в возрасте до 15 лет и более 80% у взрослых.
- Клинические проявления разнообразны и определяются механизмами развития заболевания.

- Учитывая происхождение опухолевых клеток и степень их зрелости, все лейкозы можно разделить на 4 большие группы:
- □ острые миелоидные лейкозы
- □ острые лимфобластные лейкозы
- □ хронические миелоидные лейкозы
- □ хронические лимфолейкозы

- Диагноз острого лейкоза основывается на результатах морфоцитохимических, иммунологических и молекулярно-генетических исследований.
- В миелограмме отмечается увеличение числа бластов (более 20%), которое сопровождается угнетением пролиферации элементов эритропоэза и тромбоцитопоэза.

- □ Миелограмма процентое соотношение клеточных элементов в мазках, приготовленных из пунктатов костного мозга.
- □ Костный мозг содержит два вида клеток : клетки ретикулярной стромы (фибробласты, остеобласты, жировые и эндотелиальные клетки) и клетки кроветворной ткани (паренхимы) костного мозга с их производными зрелыми клетками крови.

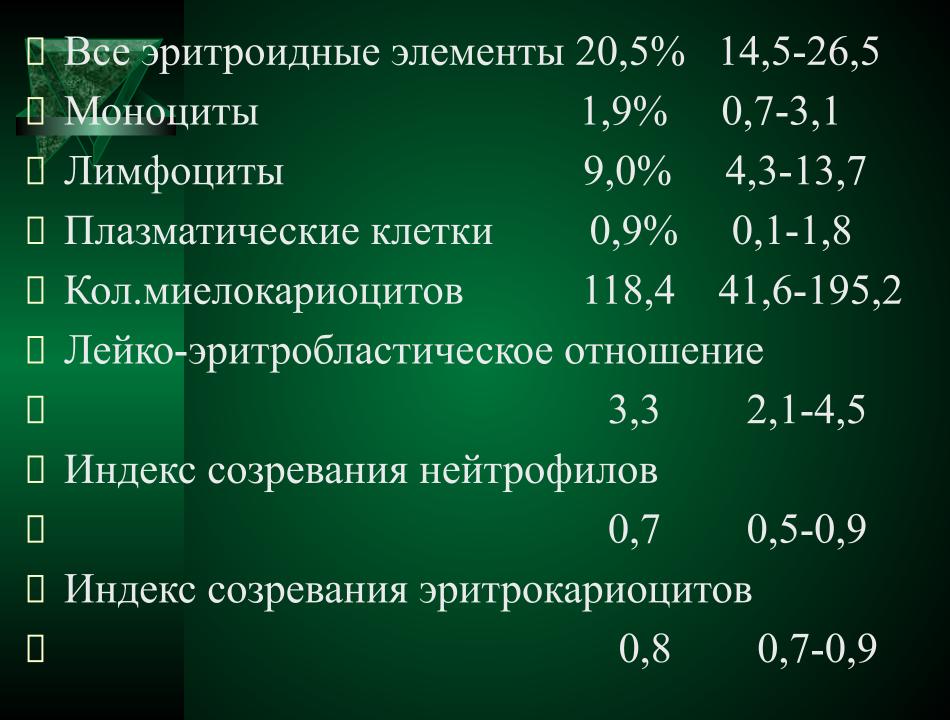
Миелограмма в норме

Ретикул	ярные клетки	0,9%	0,1-1,6
Бласты		0,6%	0,1-1,1
Миелоб	ласты	1,0%	0,2-1,7
Нейтро	фильные		
про	миелоциты	2,5%	1,0-4,1
мие	слоциты	9,6%	6,9-12,2
мет	амиелоциты	11,5%	8,0-14,9
пал	очкоядерные	18,2%	12,8-23,7

сегментоялерные

Все нейтрофильные

Элементы	60,8%	52,7-68,9
Эозинофилы	3,2%	0,5-5,8
Базофилы	0,2%	0-0,5
Эритробласты	0,6%	0,2-1,1
Нормобласты		
базофильные	3,0%	1,4-4,6
полихроматофильные	2 12,9%	8,9-16,9
оксифильные	3,2%	0,8-16,9





- В зависимости от массы опухоли изменения в анализе периферической крови значительно варьируют: от одно-, двух-ростковой цитопении до панцитопении.
- □ Обнаружение панцитопении является абсолютным показанием к выполнению стернальной пункции в целях проведения дифференциальной диагностики с гипоплазией кроветворения.

Острые миелоидные лейкозы

 Развитие может быть связано с предшествующей миелодисплазией, химиотерапией, ионизирующей радиацией, воздействием бензолпроизводных соединений.

Клинические проявления острых миелоидных лейкозов

Анемі	ия - одышка, слабость,
	бледность кожных
	покровов
Лейко	пения с абсолютной
Нейтр	опений – Язвы в полости рта,
	боли в горле, лихорадка
	инфекции дыхательных и
	мочевыводящих путей
Тромб	боцитопения –Кожные геморрагии,
	кровоточивость десен, меноррагии,
	гематурия, носовые кровотечения



Гипер	олейкоцитоз - Лейкостаз,
	респираторный
	дистресс -
	синдром
Экстр	рамедуллярная инфильтрация
	Гипертрофия десен,
	поражение кожных
	покровов, ЦНС,
	увеличение лимфатических
	узлов, печени, селезенки

- Уменьшение содержания миелокариоцитов наблюдают при гипопластических процессах различной этиологии, воздействии на организм человека ионизирующего излучения, некоторых химических и лекарственных веществ.
- Особенно резко количество ядерных элементов снижается при апластических процессах.
- □ При развитии миелофиброза, миелосклероза костномозговой пунктат скуден и количество ядерных элементов в нем также снижено.
- □ При наличии между костномозговыми элементами синцитиальной связи (при миеломной болезни) пунктат получают с трудом, поэтому содержание ядерных элементов в пунктате может не соответствовать истинному количеству миелокариоцитов в костном мозге.

□ Высокое содержание миелокариоцитов наиболее выражено при лейкозах, В12 – дефицитных анемиях, гемолитических и постгеморрагических анемиях, т.е. при заболеваниях, сопровождающихся гиперплазией костного мозга

- Мегакариоциты и мегакариобласты встречаются в препаратах костного мозга в небольшом количестве, они располагаются по периферии препарата.
- □ Обычно проводят лишь ориентировочную субъективную оценку относительного сдвига в направлении более молодых или зрелых форм.

- Увеличение количества мегакариоцитов и мегакариобластов может вызывать миелопролиферативные процессы и метастазы злокачественных новообразований в костный мозг.
- □ Количество мегакариоцитов возрастает также при идиопатической аутоиммунной тромбоцитопении, лучевой болезни в период восстановления, хроническом миелолейкозе.

□ Увеличение количества бластных клеток с появлением полиморфных уродливых форм на фоне клеточного или гиперклеточного костного мозга характерно для острых и хронических лейкозов. □ Мегалобласты и мегалоциты различных генераций, крупные нейтрофильные миелоциты, метамиелоциты, гиперсегментированные нейтрофилы характерны для В 12-дефицитной и фолиеводефицитной анемий.

- Уменьшение количества мегакариоцитов и мегакариобластов (тромбоцитопении) может вызывать гипопластические и апластические процессы, в частности при лучевой болезни, иммунные и аутоиммунные процессы, метастазы злокачественных новообразований (редко).
- Содержание мегакариоцитов снижается также при острых лейкозах, В12- дефицитных анемиях, миеломной болезни, системной красной волчанке.

- Увеличение количества миелоидных элементов, их зрелых и незрелых форм вызывают интоксикации, острое воспаление, гнойные инфекции, шок, острую кровопотерю, туберкулез, злокачественные новообразования.
- Промиелоцитарно-миелоцитарный костный мозг с уменьшением числа зрелых гранулоцитов на фоне клеточной или гиперклеточной реакции может вызывать миелотоксические и иммунные процессы.
- Резкое уменьшение содержания гранулоцитов на фоне снижения миелокариоцитов характерно для агранулоцитоза.

□ Эозинофилия костного мозга возможна при аллергии, глистных инвазиях, злокачественных новообразованиях, острых и хронических миелоидных лейкозах, инфекционных заболеваниях.

□ Увеличение моноцитоидных клеток находят при острых и хронических моноцитарных лейкозах, инфекционном мононуклеозе, хронических инфекциях, злокачественных новообразованиях.

□ Увеличение количества лимфоидных элементов, появление голоядерных форм (тени Гумпрехта) при клеточном костном мозге могут давать лимфопролиферативные заболевания (хронический лимфолейкоз, макроглобулинемия Вальденстрема, лимфосаркома).

□ Повышение содержания
 плазматических клеток с появлением
 их полиморфизма, двуядерных
 клеток, изменением окраски
 цитоплазмы могут вызывать
 плазмоцитомы (плазмобластомы).

- Увеличение количества эритрокариоцитов без нарушения созревания возможно при эритремии.
- Увеличение содержания эритрокариоцитов и уменьшение лейкоэритробластического соотношения могут вызывать постгеморрагические анемии и большинство гемолитических анемий.

□ Уменьшение одержания эритрокариоцитов при снижении общего количества миелокариоцитов и небольшого увеличения бластных клеток, лимфоцитов, плазмоцитов наблюдается при гипоапластических процессах.

- □ Индекс созревания эритрокариоцитов отношение процентного содержания нормобластов, содержащих гемоглобин, к общему количеству всех нормобластов.
- Уменьшение этого индекса отражает задержку гемоглобинизации, преобладание молодых базофильных форм (например, В12- дефицитная анемия).
- Индекс созревания эритрокариоцитов снижается при железодефицитных и иногда при гипопластичесих анемиях.

- Пейкоэритробластическое соотношение представляет собой отношение суммы процентного содержания всех элементов гранулоцитарного ростка к сумме процентного содержания всех элементов эритроидного ростка костного мозга.

 В норме это соотношение составляет 2:1- 4:1.
- Увеличение индекса при высокой клеточности костного мозга свидетельствует о гиперплазии лейкоцитарного ростка (более 150) (хронический лейкоз);
- □ при низкой клеточности о редукции красного ростка (менее 80) (апластическая анемия или большой примеси периферической крови.

- Уменьшение индекса при высокой клеточности костного мозга свидетельствует о гиперплазии красного ростка (гемолитическая анемия), при низкой клеточности о преимущественнойредукции гранулоцитарного ростка (агранулоцитоз).
- □ Лейкоэритробластическое соотношение уменьшается при гемолитических, железодефицитных, постгеморрагических, В12 дефицитных анемиях.
- □ Лейкоэритробластическое соотношение увеличивается при лейкозах и иногда при угнетении эритроидного ростка при гипопластической анемии.

Гемобластозы

- □ Опухолевые заболевания кроветворной ткани.
- В зависимости от локализации процесса различают формы с диффузным поражением костного мозга (лейкозы) и формы с начальной локализацией вне костного мозга (лимфомы, лимфосаркомы).
- Эти две формы являются родственными заболеваниями, т.к. в их основе лежит превращение нормальных кроветворных клеток в опухолевые.

- Увеличение индекса созревания нейтрофилов фиксируют при миелолейкозах, лейкемоидных реакциях миелоидного типа, некоторых формах агранулоцитоза,
- его уменьшение при задержке созревания на стадии зрелых гранулоцитов или задержке их вымывания (при гиперспленизме, некоторых инфекционных и гнойных процессах)

- Индекс созревания нейтрофилов характеризует состояние гранулоцитарного ростка. Он равен отношению процентного содержания молодых элементов зернистого ряда (промиелоцитов, миелоцитов, и метамиелоцитов) к процентному содержанию зрелых гранулоцитов (палочкоядерных и сегментоядерных).
- Увеличение этого индекса при богатом костном мозге свидетельствует о задержке созревания нейтрофилов, при бедном костном мозге о повышенном выходе зрелых клеток из костного мозга и истощении гранулоцитарного резерва.

□ Повышение содержания атипичных мононуклеаров на фоне уменьшения зрелых миелокариоцитов могут вызывать вирусные инфекции (инфекционный мононуклеоз, аденовирус, грипп, вирусный гепатит, краснуха, корь и др).

Острые лейкозы

- □ Острый лимфобластный лейкоз встречается преимущественно у детей.
- □ На основании морфологических и гистохимических свойств бластных клеток различные подтипы острого лейкоза.

□ Особенностью острого лейкоза является раннее и быстрое метастазирование лейкозных клеток, что вызывает всевозможные внекостномозговые проявления заболевания (поражения нервной системы, органов пищеварения, почек, сердца)

- □ Общий анализ крови.
 - В начальный период анемия может отсутствовать, в развернутую фазу она резко выражена, количество эритроцитов снижается до 1- 1,5 .10 (12).
- Анемия носит нормохромный характер.
 Количество ретикулоцитов обычно существенно снижено.
- □ Возрастает СОЭ.

- □ Количество лейкоцитов колеблется от низких (0,1.10(9)) до высоких 100-300х 10 (9), что зависит от формы и стадии заболевания.
- □ В периферической крови в развернутой стадии выявляются самые молодые костномозговые клетки и небольшое количество зрелых элементов (лейкемический провал), отсутствуют эозинофилы и базофилы.

- □ Характерна тромбоцитопения (до 20х10 (9), особенно для миелолейкоза.
- □ При мегакариобластном лейкозе уровень тромбоцитов превышает норму.

□ При исследовании костного мозга выявляют уменьшение количества клеток во всех ростках кроветворения.

Хронический лимфолейкоз

- □ Характеризуется увеличением количества зрелых лимфоидных клеток в крови, селезенке, лимфатических узлах, печени. Источник опухоли – клетки предшественники лимфопоэза.
- □ Клеточный состав- в основном В-популяция (95%).

- □ Общий анализ крови.
 - В начальный период умеренный лейкоцитоз (до 50х10(9).
 - В период выраженных клинических проявлений лейкоцитоз выше 50х10(9).
 - Резко увеличено количество лимфоцитов (10x10(9) и больше.
 - При прогрессировании заболевания появляются единичные пролимфоциты и лимфобласты. Выявляются тени Гумпрехта.
- □ Нормохромная анемия у половины больных, часто отмечается тромбоцитопния.

- Исследование костного мозга.
 Выявляется лимфоидная инфильтрация, снижение числа клеток гранулоцитарного ряда.
- □ Иммунологические и генетические исследования. Преобладают В-лимфоциты в 95%. Отмечается снижение уровня иммуноглобулинов, особенно IgA и Ig M.

Хронический миелолейкоз

- □ Злокачественная опухоль кроветворной ткани, исходящая из клеток- предшественников миелопоэза.
- □ Общий анализ крови.
 - В начальный период число лейкоцитов увеличено, в лейкоформуле сдвиг влево до промиелоцитов и миелоцитов.
 - Возрастает содержание базофилов и эозинофилов,
 - количество тромбоцитов в норме, небольшая анемия, повышена СОЭ.

- Дальнейшее прогрессирование заболевания приводит к значительной анемии, появляется анизоцитоз и пойкилоцитоз.
- □ Количество лейкоцитов резко возрастает. Определяется большое количество молодых элементов гранулоцитарного ряда, возрастает до 15% количество бластов, базофилов и эозинофилов.

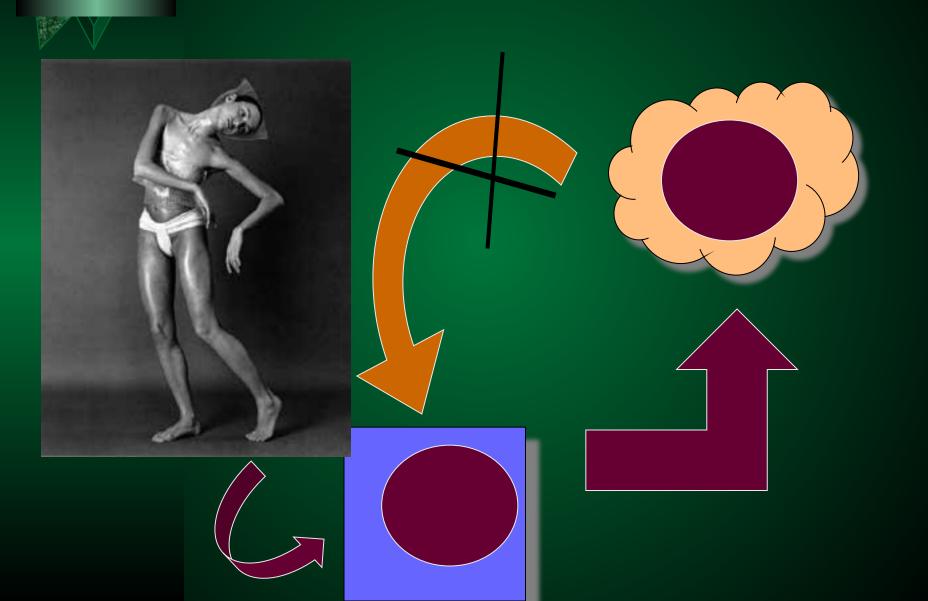
- Исследование костного мозга выявляется повышенное число незрелых форм клеток гранулоцитарного ряда (миелоциты, промиелоциты),подавление эритропоэза. Преобладает гранулоцитоз.
- □ Во всех клетках костного мозга и ядросодержащих клетках крови выявляют типичную филадельфийскую хромосому

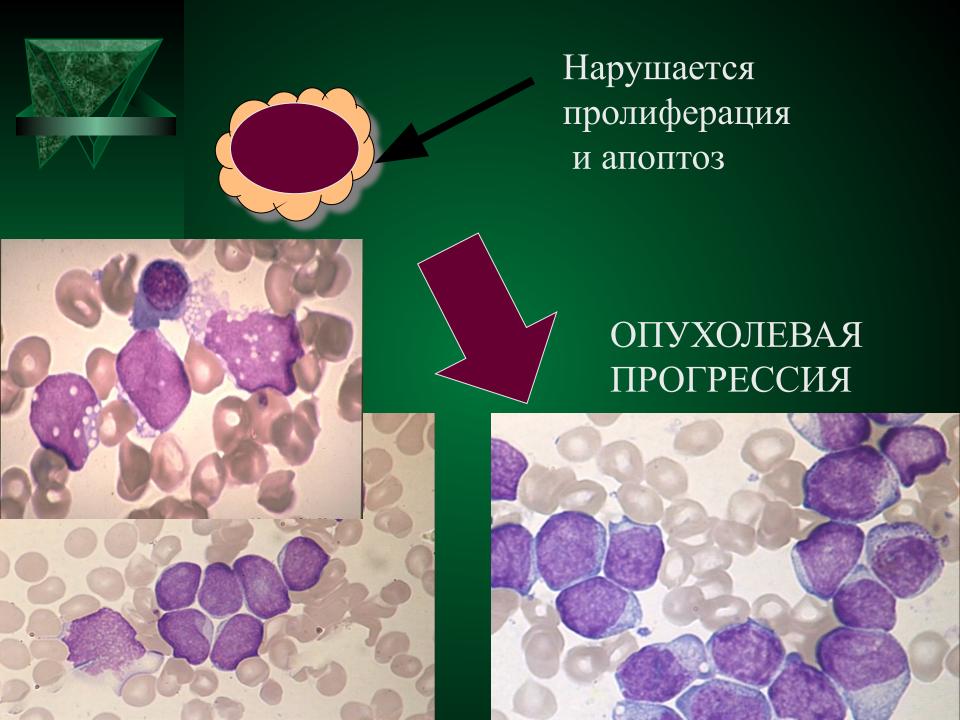
Этиология

- Генетическая предрасположенность
- Эндогенные и эндокринные нарушения
 - Химические факторы
 - Физические факторы
 - ВИРУСЫ
 - Иммунодефицит

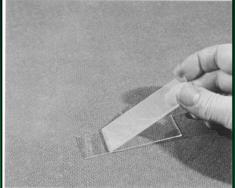








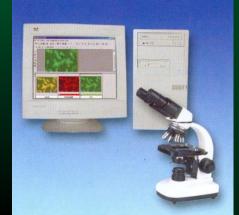




Этапы морфологического анализа:



- забор биоматериалов и приготовление препарата
- фиксация и окрашивание материала
- исследование под микроскопом





Особенности при гематологических исследованиях

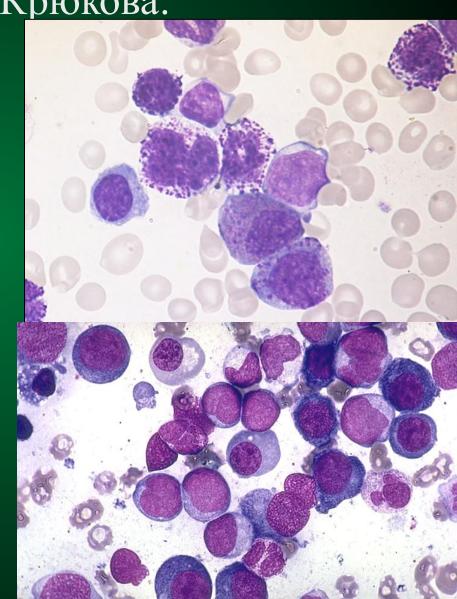
- •Чистота предметных стекол
- •Правильно приготовленный препарат пренарат, пригодный для изучения морфологии клеток, должен быть равномерно тонким, желтоватого цвета, доста-
- точной величины, т.е. располагаться на 1-1,5 см от краев,
- занимать 2/3 длины стекла и оканчиваться *"метелочкой".*
 - Толстые, густо-розовые мазки не следует использовать,
- т.к. в них морфология клеток плохо различима. •Правильный подбор и использование
 - антикоагулянта (ЭДТА, гепарин, КЦД, оксалат и т.д.)
- •Условия хранения нефиксированных препаратов
- •Правильно подобранные режимы фиксации
- и окраски
- •Использование «забуференной» воды

Метод окраски препаратов крови и костного

мозга Паппенгейма-Крюкова:

комбинированная окраска фиксаторомкрасителем по Май-Грюнвальду и раствором красителя по Романовскому.

- погрузить мазки в краситель-фиксатор Диахим-ГемиСтей-МГ(по Май-Грюнвальду) или Диахим-ГемиСтей-Л (типа Лейшман) и выдерживать в течение 2-3 минут;
- ополоснуть препараты в буферном растворе;
- П приготовить рабочий раствор красителя Диахим-ГемиСтей-Р: смешать краситель с буферным раствором в соотношении 1:10 - 1:15 и профильтровать;
- □ зафиксированные мазки крови погрузить в рабочий раствор красителя Диахим-ГемиСтей-Р (по Романовскому) на 10-12 мин;
- препараты промыть буферным раствором, высушить на воздухе и микроскопировать.



Режим окраски препаратов крови с использованием красителя Диахим-ГемиСтейн-Р-классик

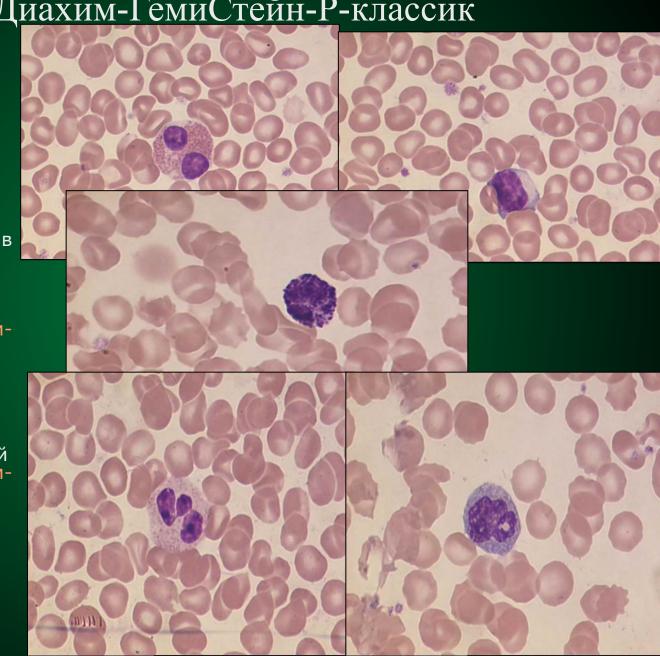
•погрузить мазки в краситель-фиксатор Диахим-ГемиСтей-МГ(по Май-Грюнвальду) или Диахим-ГемиСтей-Л (типа Лейшман) и выдерживать в течение 2-3 минут;

•ополоснуть препараты в буферном растворе;

•приготовить рабочий раствор красителя Диахим-ГемиСтей-Р: смешать краситель с буферным раствором в соотношении 1:20 - 1:30 и профильтровать;

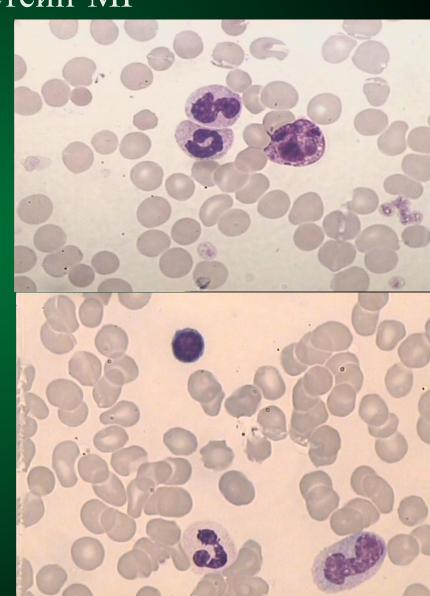
•зафиксированные мазки крови погрузить в рабочий раствор красителя Диахим-ГемиСтей-Р (по Романовскому) на 20-45 мин;

 препараты промыть буферным раствором, высушить на воздухе и микроскопировать.



Режим окраски препаратов крови с использованием красителя Диахим-ГемиСтейн-МГ

- □ погрузить мазки в краситель-фиксатор Диахим-ГемиСтей-МГ(по Май-Грюнвальду) и выдерживать в течение 2-3 минут;
- ополоснуть препараты в буферном растворе;
- приготовить рабочий раствор красителя Диахим-ГемиСтей-МГ: смешать краситель с буферным раствором в соотношении 1:3 и профильтровать;
- □ зафиксированные мазки крови погрузить в рабочий раствор красителя Диахим-ГемиСтей-МГ (по Май-Грюнвальду) на 10-12 мин;
- препараты промыть буферным раствором, высушить на воздухе и микроскопировать.

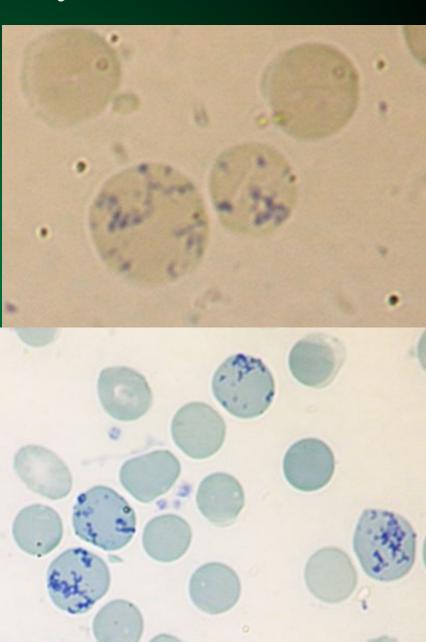




Окраска ретикулоцитов

- Смешать в пробирке раствор красителя

 ЦитоСтейн-Ртц и кровь в соотношении 1:1
 1:4.
- Выдержать при комнатной температуре в течение 30-40 минут.
- Приготовить мазки и микроскопировать.

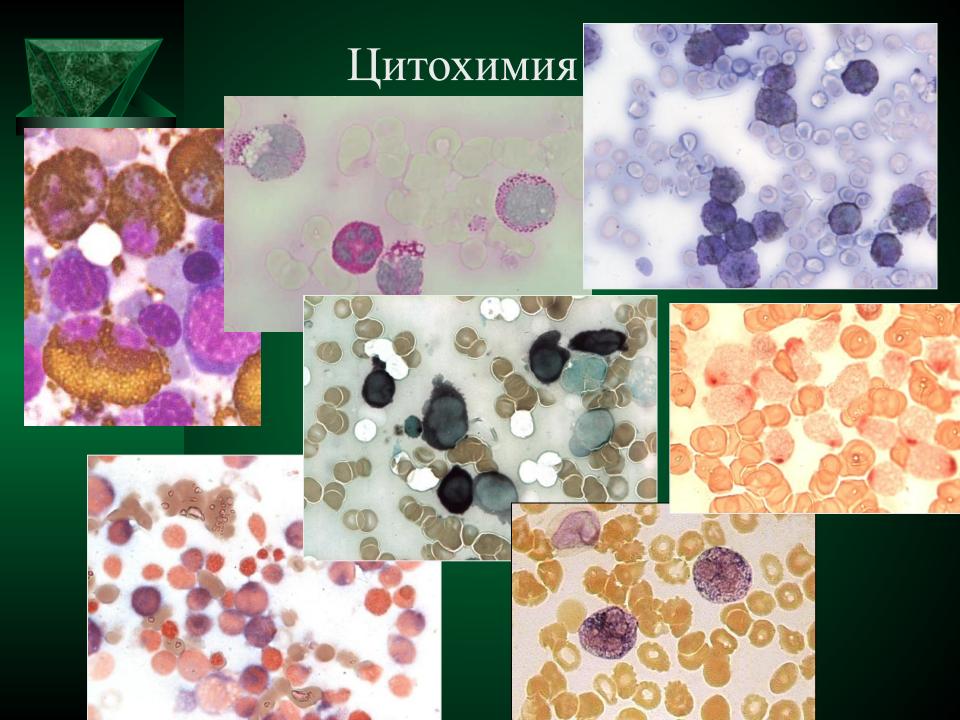




Особенности при цитохимических исследованиях

- •Чистота предметных стекол
- •Правильно приготовленный препарат
- •Правильный подбор и использование антикоагулянта (ЭДТА, гепарин, КЦД, оксалат и т.д.)
- •Условия хранения нефиксированных препаратов
- •Правильно подобранные фиксаторы
- •Правильно подобранные режимы фиксации

и окраски



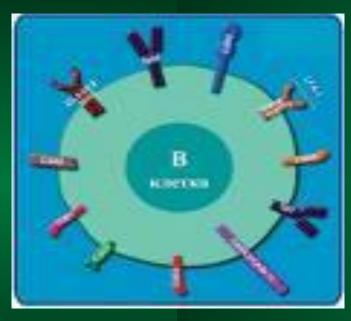
Использование красителя Диахим-ГемиСтейн-Р «профессионал» в цитогенетике.





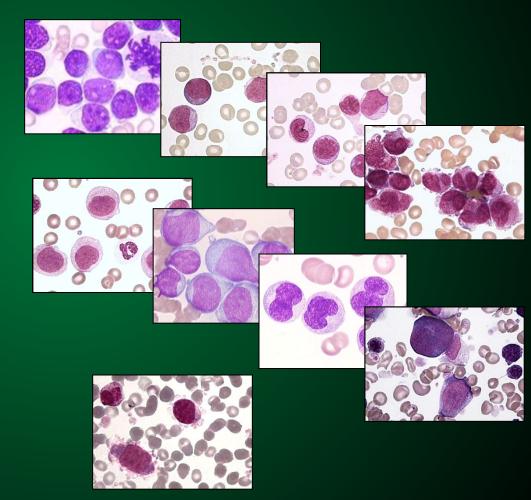


Иммунофенотипирование



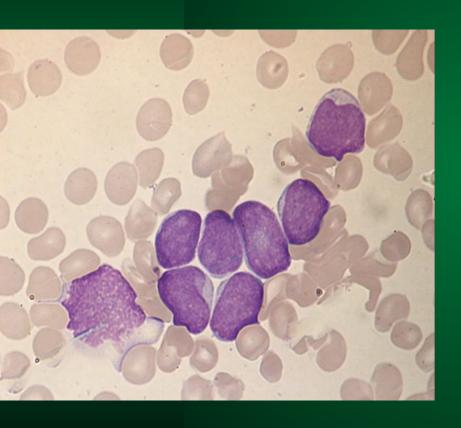
Морфологические варианты острых миелоидных лейкозов (по ФАБ-классификации).

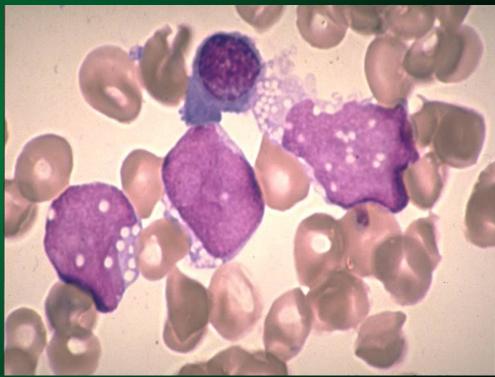
- Острый миелобластный лейкоз с минимальной дифференцировкой бластов (вариант Мо)
- Острый миелобластный лейкоз без созревания (M1)
- □ Острый миелобластный лейкоз с созреванием (M2).
- Острый промиелоцитарный лейкоз (M3)
- □ Острый миеломонобластный лейкоз (M4)
- Острые монобластные лейкозы М5а
- □ Острые монобластные лейкозы М5б
- □ Острый эритромиелоз.
- Острый мегакариобластный лейкоз.



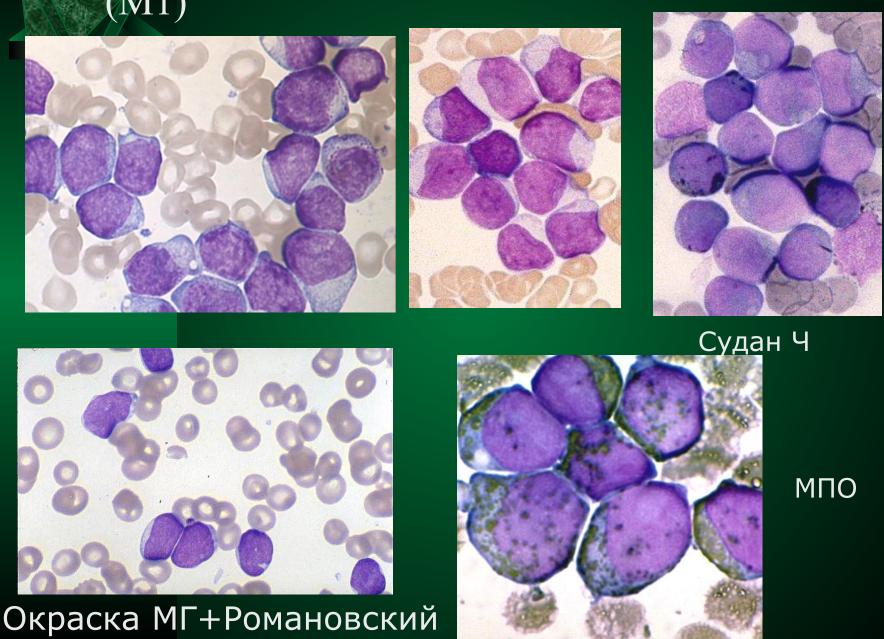


Острый миелобластный лейкоз с минимальной миелоидной дифференцировкой бластов (М0)

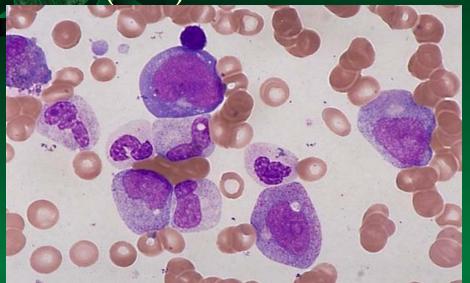


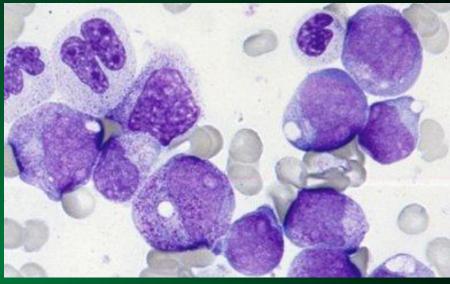


Острый миелобластный лейкоз без созревания (M1)

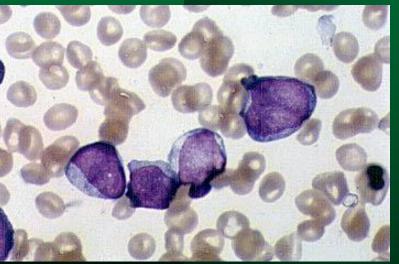


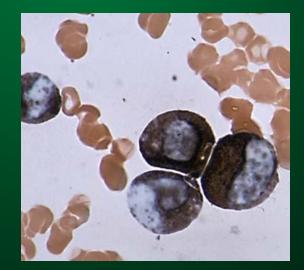
Острый миелобластный лейкоз с созреванием (M2)

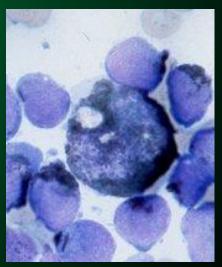




Окраска по Паппенгейму (МГ+Ром)

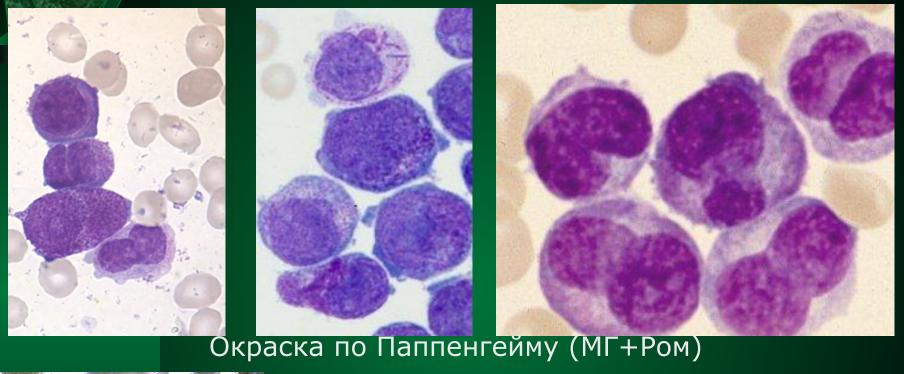


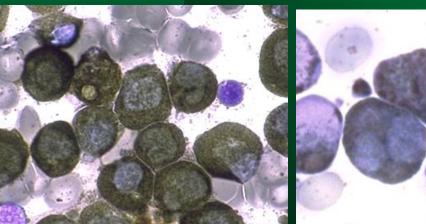


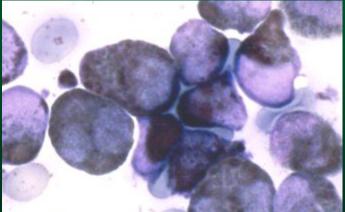


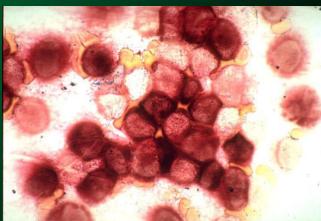
МПО Окраска Суданом черным

Острый промиелоцитарный лейкоз (М3)



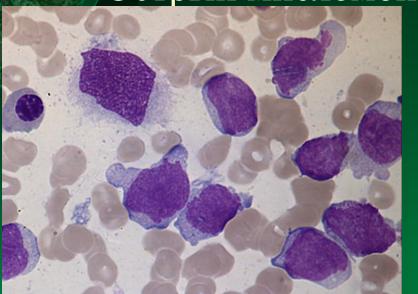


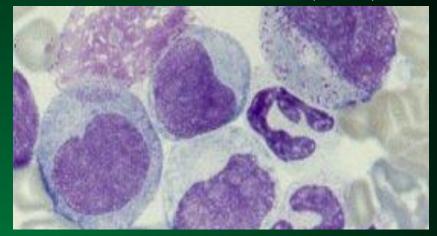




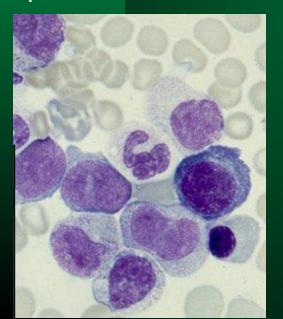
МПО

Острый миеломонобластный лейкоз (М4)





Окраска по Паппенгейму (МГ+Ром)

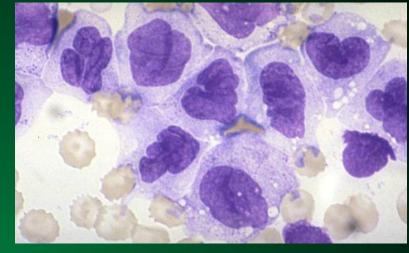


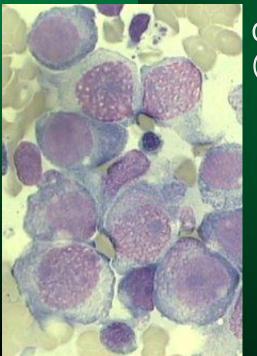


Окраска на НЭ

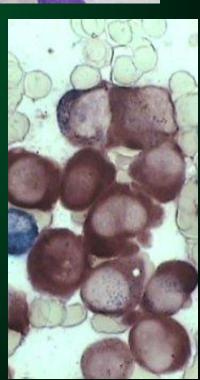
Острый монобластный лейкоз с созреванием (M5b)





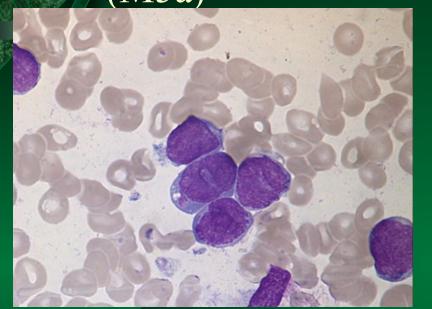


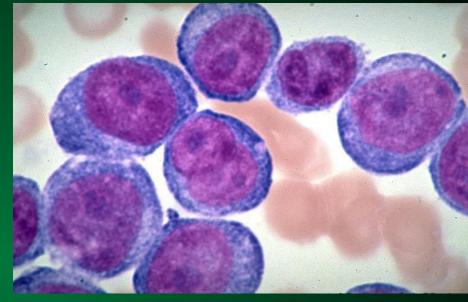
Окраска по Паппенгейму (МГ+Ром)



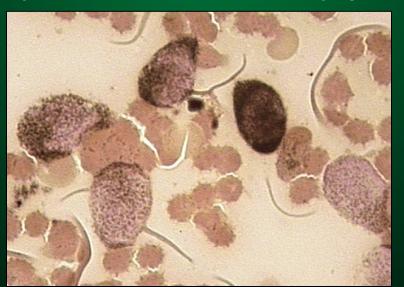
НЭ

Острый монобластный лейкоз без созревания (M5a)



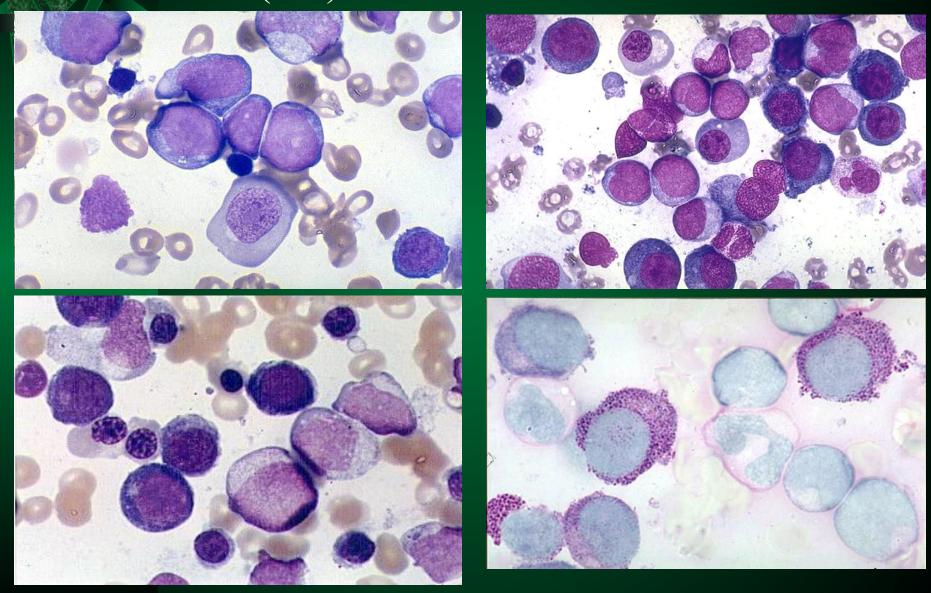


Окраска по Паппенгейму (МГ+Ром)



НЭ

Острый эритромиелоз (M6)



Острый мегакариобластный лейкоз (М7)

