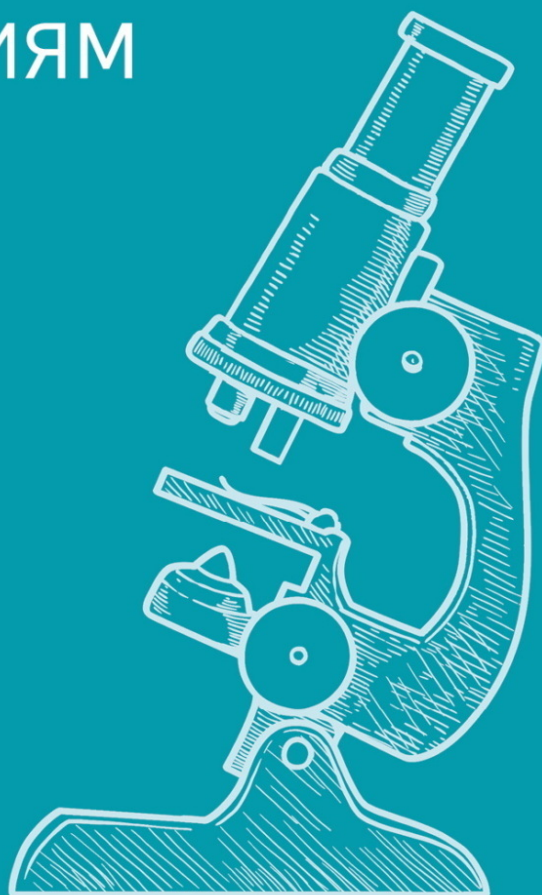


[+1 ЗДОРОВЫЙ
ЧЕЛОВЕК]

АНАЛИЗЫ

АКТУАЛЬНЫЕ СВЕДЕНИЯ
ПО ЛАБОРАТОРНЫМ
ИССЛЕДОВАНИЯМ
ПОД РУКОЙ



Под редакцией доктора
медицинских наук, профессора,
чл.-корр. РАЕ и РЭА

Ю. Ю. ЕЛИСЕЕВА

 **БОМБОРА**
ИЗДАТЕЛЬСТВО

Плюс один здоровый человек. Книги
о медицине от ведущих экспертов

Коллектив авторов

**Анализы. Актуальные
сведения по лабораторным
исследованиям под рукой**

«ЭКСМО»

2022

УДК 616-07
ББК 53.4

Коллектив авторов

Анализы. Актуальные сведения по лабораторным исследованиям под рукой / Коллектив авторов — «Эксмо», 2022 — (Плюс один здоровый человек. Книги о медицине от ведущих экспертов)

ISBN 978-5-04-238581-0

Самый современный и исчерпывающий справочник, содержащий всю необходимую информацию о лабораторных исследованиях и анализах. Внутри вы найдете описания часто используемых и редких методик и рекомендации по подготовке к ним, а также расшифровку результатов анализов и советы по исследованиям при тех или иных симптомах. В это обновленное издание включена информация по диагностике коронавируса. Справочник предназначен для широкого круга читателей. В формате PDF A4 сохранен издательский макет книги.

УДК 616-07
ББК 53.4

ISBN 978-5-04-238581-0

© Коллектив авторов, 2022
© Эксмо, 2022

Содержание

Глава 1	6
Взятие крови	6
Общий анализ крови	8
Гемоглобин	9
Строение гемоглобина	9
Определение концентрации гемоглобина	10
Цветовой показатель	12
Современные приборы для измерения гемоглобина	12
Изменения гемоглобина при патологии	13
Эритроциты	14
Жизненный цикл эритроцитов	14
Определение количества эритроцитов	14
Проблемы автоматического анализа эритроцитов	15
Измерение диаметра эритроцитов и графическая регистрация по величине	16
Исследование ретикулоцитов	17
Изменения эритроцитов при патологии	18
Измененные формы эритроцитов и связанные с ними заболевания	19
Лейкоциты	20
Жизненный цикл лейкоцитов	20
Конец ознакомительного фрагмента.	21

Анализы. Актуальные сведения по лабораторным исследованиям под рукой

Под редакцией Юрия Елисеева

Серия «*Полный медицинский справочник*»

Над книгой работали

О. Л. Ананьев, О. В. Ананьева, Е. В. Герасина, к.м.н. Г. Р. Колоколов, А. Ю. Полянина, С. Ю. Шашлова, к.м.н. В. Н. Шилов, к.м.н. Л. В. Алешина, к.м.н. И. В. Гамова, С. В. Дворников, М. П. Молчанов, И. А. Пивоварова, д.м.н. Ю. Ю. Елисеев.



© ИП Макеев А. В., текст, 2022

© Оформление. ООО «Издательство «Эксмо», 2026

Глава 1

Исследование крови

Взятие крови

Подготовка к сдаче анализа крови включает ряд особенностей:

- 1) оптимальное время сдачи анализа – утро;
- 2) забор крови производится натощак (через 8–12 ч после приема пищи);
- 3) рекомендуется исключить из рациона алкоголь за 1–2 дня до исследования;
- 4) необходимо не менее чем за 1 ч до сдачи крови исключить курение;
- 5) не рекомендуется перед сдачей крови проведение различных медицинских обследований, прием лекарственных препаратов;
- 6) не рекомендуется перед сдачей крови проведение диагностических (эндоскопическое и лучевое исследование, глубокая пальпация, общий массаж, биопсия, пункция), функциональных (зондирование, введение контрастных веществ) и лечебных процедур;
- 7) необходимо избегать физической нагрузки;
- 8) желательно сдавать кровь в одной лаборатории.

В лабораторной практике исследуют капиллярную кровь, которую получают путем укола в мякоть IV пальца левой руки или мочки уха, или венозную кровь из локтевой вены (при работе на автоанализаторах).

Для забора капиллярной крови используют иглы-скарификаторы, которые после употребления моют и кипятят в стерилизаторе или помещают на 2 ч в сушильный шкаф при температуре 180 °С. Кожу на месте укола протирают ватным тампоном, смоченным сначала спиртом, затем эфиром. Укол лучше производить сбоку, где более густая капиллярная сеть, на глубину 2–3 мм. Также могут быть использованы автоматические скарификаторы, способствующие снижению травматичности и соблюдению требуемой глубины прокола, в зависимости от типа скарификатора.

Кровь из ранки должна вытекать свободно, так как при сильном надавливании на палец возможно перемешивание тканевой жидкости.

Венозная кровь считается оптимальным материалом для клинического исследования крови. Забор крови осуществляется из кубитальной вены. Наложение жгута допустимо не более чем на 1 мин, кулак следует разжать при попадании в пробирку первых капель крови. При более длительном наложении жгута могут быть получены завышенные результаты общего белка, альбуминов и пр. При длительном сжатии кулака может быть повышен уровень калия в плазме на 15–25%.

Применяемые в настоящее время гематологические анализаторы в большинстве случаев сертифицированы и стандартизированы для работы с венозной кровью. Калибровочные и контрольные материалы для калибровки гематологических анализов предназначены для венозной крови. Забор крови посредством вакуумных систем характеризуется некоторыми преимуществами, в частности, данный метод обеспечивает высокое качество пробы и способствует предотвращению контакта с кровью. Вакуумные системы представляют собой сочетание трех элементов: стерильной одноразовой пробирки с крышкой и дозированным содержанием вакуума, стерильной иглы-бабочки или одноразовой двусторонней иглы, закрытой защитными колпачками с обеих сторон, и иглодержателя. Кровь втягивается непосредственно в пробирку из вены через иглу под действием вакуума.

Из пальца забор крови производится:

- 1) при ожогах, имеющих большую площадь;
- 2) при наличии мелких или малодоступных вен;
- 3) при выраженном ожирении;
- 4) при склонности к венозному тромбозу;
- 5) у новорожденных.

Общий анализ крови

Таблица 1

Основные показатели общего анализа крови в состоянии нормы

Показатель	Женщины	Мужчины
Гемоглобин	120–140 г/л	130–160 г/л
Гематокрит	34,3–46,6%	34,3–46,6%
Тромбоциты	180–360×10 ⁹	180–360×10 ⁹
Эритроциты	3,7–4,7×10 ¹²	4–5,1×10 ¹²
Лейкоциты	4–9×10 ⁹	4–9×10 ⁹
СОЭ	2–15 мм/ч	1–10 мм/ч
Цветовой показатель	0,85–1,15	0,85–1,15
Ретикулоциты	0,2–1,2%	0,2–1,2%
Тромбокрит	0,1–0,5%	0,1–0,5%
Эозинофилы	0–5%	0–5%
Базофилы	0–1%	0–1%
Лимфоциты	18–40%	18–40%
Моноциты	2–9%	2–9%
Средний объем эритроцитов	78–94 фл	78–94 фл
Среднее содержание гемоглобина в эритроцитах	26–32 пг	26–32 пг
Палочкоядерные гранулоциты	1–6%	1–6%
Сегментоядерные гранулоциты	47–72%	47–72%

Гемоглобин

Строение гемоглобина

Гемоглобин – основной компонент эритроцитов, благодаря которому осуществляется перенос кислорода. Он относится к хромопротеинам и имеет в своем составе белок (глобин) и железосодержащую группу (гем).

Гем – комплексное соединение железа и протопорфирина IX, состоящего из четырех пиррольных колец, соединенных СН-мостиками. Железо, находящееся в центре протопорфирина, соединено с четырьмя атомами азота пиррольных колец двумя главными и двумя дополнительными связями. Одна из двух оставшихся связей (координационное число железа равно 6) используется для соединения с глобином, другая – с кислородом. Гем одинаков для всех видов гемоглобина животных.

Глобин – тетрамер, состоящий из двух пар полипептидных цепей, различие аминокислотного состава которых определяет гетерогенность молекулы гемоглобина человека. В целом молекула гемоглобина содержит 574 аминокислоты. Каждая полипептидная цепь глобина соединена с гемом (на 1 глобин приходится 4 гема).

Гемоглобин взрослого человека имеет 2 α - и 2 β -полипептидные цепи (табл. 2). Фетальный гемоглобин, содержащийся в крови новорожденного (HBF), имеет в своем составе 2 α - и 2 γ -полипептидные цепи.

Гематокрит представляет собой совокупность всех фракций клеток крови, в которых содержится гемоглобин. Показатель гипоксии – кислородного голодания – снижение гематокрита ниже нормы. Повышение гематокрита может указывать на наличие онкологических заболеваний крови.

Таблица 2

Содержание гемоглобина взрослого и фетального типа в различные возрастные периоды (в процентах от общего гемоглобина)

Возраст	Фетальный гемоглобин	Гемоглобин взрослого типа
1–7 дней	71	25
8–21 день	65,4	29
22–30 дней	60	34,6
1–2 месяца	56,1	43,4
3–5 месяцев	22,5	75,3
6–9 месяцев	9,1	88,2
9–12 месяцев	4,3	92,8
1–3 года	1,6	94,9
3–7 лет	0,8	94,9
7–14 лет	0,7	94,9
Взрослые	до 1,5	94,9

Гемоглобин может находиться в эритроцитах в виде:

- 1) оксигемоглобина: при присоединении железа к гему;
- 2) карбаминооксигемоглобина: при присоединении углекислого газа к свободным аминным группам глобина;
- 3) метгемоглобина: при окислении железа гема.

Повышение содержания карбоксигемоглобина регистрируется при гемолитических анемиях, повышении в атмосферном воздухе оксида углерода, у курильщиков.

Метгемоглобин повышается при врожденном и приобретенном снижении активности метгемоглобинредуктаз, повышении содержания в пище нитратов, кишечных интоксикациях, наличии аномального гемоглобина М. Определение содержания гликированных гемоглобинов имеет диагностическое значение, особенно при сахарном диабете. Содержание гликозилированного гемоглобина находится у здоровых в пределах 3–6% от общего гемоглобина.

Определение концентрации гемоглобина

Важнейшие из методов определения концентрации гемоглобина – колориметрические, инвазивные. Они широко применяются на практике ввиду их простоты и доступности.

Гематитовый метод (метод Сали). Основан на превращении гемоглобина при прибавлении к крови хлористо-водородной кислоты в хлоргемин (хлорид гематита) коричневого цвета, интенсивность окраски которого пропорциональна содержанию гемоглобина. Полученный раствор хлорида гематита разводят водой до цвета стандарта, соответствующего известной концентрации гемоглобина. Данный метод в настоящее время сравнительно редко используется в лабораторной практике, поскольку существуют точные автоматические методы.

Определение проводят в упрощенном колориметре – геометре Сали. Этот прибор состоит из пластмассового штатива с 3 вертикальными гнездами. В боковых гнездах находятся 2 запаянные пробирки со стандартной жидкостью. В среднее гнездо геометра вставляют открытую сверху градуированную стеклянную пробирку того же диаметра, что и цветные стандарты. Градуированная пробирка имеет шкалу с делениями, показывающую количество гемоглобина

в граммах на 100 мл крови, т. е. грамм-процентах (г%). При геометре имеются специальная пипетка для воды и стеклянная палочка для перемешивания.

В градуированную пробирку наливают до деления, помеченного цифрой «2 г%» (нижняя круговая метка) 0,1 г% раствора хлористо-водородной кислоты. Затем набирают кровь в капиллярную пипетку до метки «0,02 мл», всасывая ее ртом через резиновую трубку (необходимо, чтобы столбик крови кончался точно на уровне метки и не разрывался пузырьками воздуха). Обтерев кончик пипетки снаружи ватой, опускают ее в пробирку с 0,1 г% раствором хлористо-водородной кислоты и осторожно выдувают кровь. Повторными всасываниями и выдуваниями верхнего слоя жидкости пипетку ополаскивают. Пробирку несколько раз встряхивают и, заметив время, ставят в штатив. Для полного превращения гемоглобина в хлорид гематита требуется не менее 5 мин. Через 5 мин геометр поднимают до уровня глаз и сравнивают цвет испытуемой жидкости с цветом стандартов. Обычно (за исключением случаев крайне тяжелой анемии) он темнее, чем в стандартных пробирках. С помощью неградуированной пипетки к испытуемому раствору добавляют по каплям дистиллированную воду, перемешивают стеклянной палочкой и сравнивают со стандартами. Как только цвет исследуемой жидкости станет одинаков с цветом стандартов, отмечают, какому делению шкалы соответствует уровень жидкости (по нижнему мениску) в пробирке.

Промышленность выпускает геометры, содержащие грамм-процентную шкалу. За идеальную норму принимают концентрацию гемоглобина в крови, равную 16,67 г%, или 166,7 г/л.

При соблюдении всех правил работы с геометром у одного и того же больного при определении гемоглобина в разных порциях крови получают расхождение результатов в пределах $\pm 0,3$ г% (3 г/л).

Цианметгемоглобиновый метод наиболее точен, принят в большинстве стран как стандартный.

Он основан на превращении гемоглобина в цианметгемоглобин при добавлении к крови реактива. Концентрацию цианметгемоглобина измеряют фотометрически. В качестве реактива употребляют раствор Драбкина (NaHCO_3 – 1 г, KCN – 0,05 г, $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ – 0,2 г, дистиллированной воды – до объема 1 л) или какой-нибудь другой с подобным действием.

Под влиянием железисто-синеродистого калия гемоглобин окисляется до метгемоглобина (гемоглобина), который затем превращается при помощи цианина калия в цианметгемоглобин (гемоглобинцианид). Наиболее употребительное разведение крови в реактиве Драбкина – 1 : 250 (0,02 мл крови и 5 мл реактива). Через 20 мин, необходимых для полного превращения гемоглобина в гемоглобинцианид, измеряют экстинкцию при длине волны 540 нм и толщине слоя в 1 см против воды на спектрофотометре СФ-4 или на ФЭК-М и ему подобном фотоэлектроколориметре.

В настоящее время созданы прочные цианметгемоглобиновые стандарты в ампулах, соответствующие точно определенной концентрации гемоглобина. Полученные растворы исследуют на фотоэлектроколориметре и вычерчивают калибровочную кривую, откладывая показатели оптической плотности со шкалы прибора (красные цифры барабана) на оси ординат, а концентрацию гемоглобина в граммах на литр – на оси абсцисс. На основании калибровочной кривой создают рабочую таблицу, указывающую, какая концентрация гемоглобина соответствует данному показанию ФЭК.

Существуют колориметры, специально разработанные для определения гемоглобина, – гемоглобинометры. В большинстве из них используется цианметгемоглобиновый метод. Гемоглобинометры могут работать независимо или в комплексе со счетчиками частиц. Так, гемоглобинометр «Культер» (Франция), который можно применять самостоятельно, дает прямые показания гемоглобина в граммах на 100 мл. Прибор имеет высокую точность и воспроизводимость $\pm 0,1$ г% (1 г/л).

Цветовой показатель

Определение среднего содержания гемоглобина в одном эритроците производят делением концентрации гемоглобина (Hb) на число эритроцитов в одинаковом объеме крови (1 мкл). Практически среднее содержание гемоглобина в одном эритроците представляет частное от деления Hb (г/л) на число эритроцитов в миллионах.

Величину 33 пг (пикограмм – 1×10^{-12}), составляющую норму содержания гемоглобина в одном эритроците, условно принимают за 1 и обозначают как цветовой показатель. Вычисление цветового показателя производят путем деления тройного значения Hb (г/л) на 3 первые цифры числа эритроцитов в миллионах. В норме цветовой показатель колеблется от 0,86 до 1,1. В практической работе для подсчета цветового показателя используют пересчетные таблицы, а также номограммы.

Определение гемоглобина в крови методом спектрального анализа представляет собой один из наиболее информативных методов определения гемоглобина и его составляющих. Для проведения анализа данным способом применяются спектрофотометры. Основа анализа – изучение оптической плотности пробы крови. В организме гемоглобин вступает в химическую реакцию с газами, такими как кислород, окись углерода, образуя производные. Каждое из производных гемоглобина характеризуется особыми оптическими свойствами.

Пробирка с пробой крови, разведенной дистиллированной водой в пропорции 1 : 100, размещается перед спектроскопом. Проходя через призму спектрофотометра, луч белого света разлагается на спектральную гамму. При прохождении светового луча через исследуемый материал на спектральной линии проявляются полосы поглощения. Спектрофотометры, осуществляя спектральную оценку, выделяют свет одной волны. Результаты фиксируются с помощью фотоэлемента. В частности, для оксигемоглобина характерны 2 полосы поглощения в желтой и зеленой частях спектра. Аналогичны результаты для карбоксигемоглобина, но он не восстанавливается под действием химических веществ-восстановителей. Метгемоглобин проявляется в 4 полосах поглощения, наиболее четкая из которых расположена в красной части спектра. Восстановленный гемоглобин проявляется одной широкой полосой в центральной части спектра.

Со-оксиметрия представляет собой анализ газового состава крови и относится к спектроскопическому методу. Данный анализ дает возможность количественного измерения параметров крови, таких как оксигенированный, деоксигенированный гемоглобин, карбоксигемоглобин, метгемоглобин, в процентах от общей концентрации гемоглобина в крови. Данные параметры крови измеряются спектрометром на пропускание/поглощение 380–780 нм.

Современные приборы для измерения гемоглобина

Фотоэлектрические гемоглобинометры измеряют концентрацию гемоглобина, сразу выдавая на дисплее показания в г/100 или 1000 мл. В зависимости от задействованного метода, приборы калибруются растворами гемиглобинцианида или гемихрома.

Фотометры со светофильтрами применяются для измерения оптической плотности пробы крови. В них используются светофильтры, поглощающие свет в пределах 540 нм. Концентрация гемоглобина рассчитывается по калибраторам или калибровочному графику на основе гемихромных или гемиглобинцианидных калибровочных растворов. На аналогичном принципе работают спектрофотометры.

Изменения гемоглобина при патологии

Существуют физиологические и патологические виды гемоглобина. У здорового человека существуют три основных типа гемоглобина: примитивный – Р, фетальный – F, взрослый – А.

Гемоглобинопатии (гемоглобинозы) обусловлены наследственной аномалией белковой части гемоглобина, они связаны с нарушением синтеза гемоглобина.

В настоящее время установлено более 600 аномальных гемоглобинов.

Серповидно-клеточная анемия является проявлением одной из наиболее важных в клиническом отношении гемоглобинопатий. На молекулярном уровне вследствие мутаций структурных генов, контролирующих синтез цепей глобина, происходит замещение аминокислоты глутамина на аминокислоту валин. При этой патологии специфическим свойством крови является приобретение эритроцитами серповидной формы при снижении парциального давления кислорода в окружающей среде. На этом основана и специальная диагностическая проба. Для обнаружения подобного явления создают венозный застой с гипоксией путем перетяжки пальца на 5 мин. При добавлении к капле крови после этой процедуры восстановителя – метабисульфита натрия – также образуются серповидно-клеточные эритроциты. При электрофорезе гемоглобина выявляется дополнительная полоса.

Эритроциты

Жизненный цикл эритроцитов

Эритроцит происходит из исходной мезенхимальной клетки, которая превращается в ретикулярную (гемогистобласт), который переходит в гемоцистобласт, превращающийся в эритробласт, характерной особенностью которого является наличие огромного ядра и отсутствие гемоглобина. В последующем эритробласт превращается в нормобласт первого, второго, третьего порядка. В этой стадии уменьшается ядро, клетка наполняется гемоглобином. Он превращается в молодой эритроцитретикулоцит. В этот период снижается его двигательная активность и ретикулоцит превращается в зрелый ретикулоцит. У здоровых взрослых число ретикулоцитов составляет 0,2–1,2%.

Активная часть жизненного цикла эритроцитов протекает в периферической крови, куда они поступают в стадии ретикулоцитов. Превратившись через 1–3 дня в зрелые эритроциты, они циркулируют в организме около 120 дней. Созревание ретикулоцита сопровождается существенными изменениями в обмене веществ: прекращается значительная часть синтетических процессов, почти полностью утрачивается способность к дыханию. Эритроцит приспособлен к функции транспорта кислорода от легких к тканям и углекислого газа от тканей к легким. Основной путь обмена энергии в эритроцитах – гликолиз. Энергия гликолиза используется для активного транспорта катионов через клеточную мембрану и поддержания нормального соотношения между ионами калия и натрия в эритроцитах и плазме, а также для сохранения целостности мембраны и двояковогнутой формы клетки. Образующийся НАДФ предотвращает окисление гемоглобина в метгемоглобин. Кроме того, в эритроците происходит прямое окисление небольшого количества глюкозы в глюкозо-монофосфатном шунте с образованием восстановленного НАДФ, который используется для восстановления глутатиона. Восстановленный глутатион предохраняет мембрану клетки и предотвращает необратимое окисление гемоглобина.

В физиологических условиях стареющие эритроциты удаляются из циркуляции и разрушаются преимущественно в селезенке, печени и в меньшей степени в костном мозге клетками системы фагоцитирующих мононуклеаров. Часть эритроцитов распадается в сосудистом русле, гемоглобин соединяется с гаптоглобином в необратимый комплекс, который не проникает через почечный фильтр, а ферментативно расщепляется, главным образом в печени. При значительном гемолизе избыток гемоглобина попадает в почки. Здесь часть гемоглобина экскретируется с мочой, часть реабсорбируется в проксимальном отделе канальцев, часть гемоглобинового железа откладывается в эпителии канальцев в виде ферритина и гемосидерина, постепенно выделяясь с мочой.

Основным стимулом к повышению эритропоэтической активности служит гипоксия любого генеза. Стимулом эритропоэза обладают андрогены благодаря способности повышать биосинтез эритропоэтина. Эритропоэтин – фактор, участвующий в регуляции эритропоэза. Он влияет на процесс развития эритроидных клеток – ускоряет построение гемоглобина, способствует освобождению ретикулоцитов из костного мозга.

Определение количества эритроцитов

Метод подсчета в счетной камере. Кровь предварительно разводят с целью уменьшения числа клеток, подлежащих счету. В химические пробирки отмеривают пипеткой по 4 мл 3%-ного раствора хлорида натрия и осторожно выдувают в нее 0,02 мл капиллярной крови

(кровь забирают пипеткой от геометра Сали). Полученное разведение можно практически принять равным 1 : 200. Взвесь тщательно перемешивают и затем заполняют камеру с сетками Горяева. Сетка Горяева состоит из 225 больших квадратов (15 × 15). Большие квадраты, расчерченные вертикально и горизонтально на 16 малых квадратов, чередуются с квадратами, разделенными только вертикальными или горизонтальными линиями, и с квадратами чистыми, без линий. Глубина камеры равна 1/10 мм, сторона малого квадрата – 1/20 мм; объем малого квадрата равен 14 000 мм³.

Перед заполнением камеры и шлифованное покровное стекло моют и сушат. Покровное стекло притирают к камере так, чтобы появились радужные кольца. Каплю разведенной крови вносят пипеткой под притертое покровное стекло камеры. После заполнения камеру оставляют на 1–2 мин в покое для оседания форменных элементов, затем приступают к подсчету при малом увеличении микроскопа в затемненном поле зрения (прикрытой диафрагме и опущенном конденсоре). Эритроциты считают в 5 больших квадратах (5 × 16 = 80 малым квадратам), расположенных по диагонали. Для этого отыскивают левый верхний большой разграфленный квадрат, подсчитывают количество находившихся в нем эритроцитов, затем по диагонали вниз и направо находят следующий такой квадрат и т. д. Для того чтобы дважды не сосчитать одни и те же клетки, лежащие на пограничных линиях, соблюдают правило: к данному квадрату принадлежат клетки, находящиеся большей своей частью внутри него, разделенные пограничной линией; считают только на верхней и левой границе квадрата.

Количество эритроцитов в 1 мл крови рассчитывают путем деления произведения из числа сосчитанных эритроцитов (a), 4000 (приведение к объему 1 мкл крови) и 200 (степень разведения) – $a \times 4000 \times 200 \times 80$ (количество малых квадратов).

При взаимосоотношении получается произведение – $a \times 10\,000$, т. е. число подсчитанных эритроцитов в 5 больших квадратах на 10 000. Ошибка метода в среднем равна $\pm 2,5\%$.

Электронно-автоматический метод. Наибольшее распространение нашел импульсный принцип, основанный на разнице электропроводности частиц крови и жидкости, используемой для разбавления. На нем работают счетчики «Целлоскоп» (Швеция) и «Культер» (Франция).

Кровяные тельца, взвешенные в изотоническом растворе хлорида натрия, всасываются через микроотверстие диаметром 100 мкм, с обеих сторон которого подведено по одному платиновому электроду. Скачкообразные повышения сопротивления, возникающие при прохождении частиц крови через капилляр, вызывают электрические импульсы, амплитуда которых прямо пропорциональна объему частиц. Импульсы усиливаются, подсчитываются в электронном устройстве. Производительность аппаратов этого типа велика: весь процесс от введения образца до получения результата происходит в течение 20 с при ошибке 1–2%.

Индексы красной крови имеют значение для суждения о нормо-, гипер- и гипохромии эритроцитов. Под индексами красной крови понимают среднее содержание гемоглобина в одном эритроците и цветовой показатель.

Проблемы автоматического анализа эритроцитов

Благодаря появлению автоматических методик измерения эритроцитов появилась возможность исследовать дополнительные параметры: средний объем эритроцитов (MCV), среднее содержание гемоглобина (MCH), среднюю концентрацию гемоглобина (MCHC), анизоцитоз эритроцитов (RDW). Последний показатель представляет собой важный дополнительный критерий для диагностики пациентов с анемиями и динамического наблюдения за ходом лечения.

При автоматическом анализе эритроцитов в канал счета попадают также лейкоциты и тромбоциты, что может приводить к ошибке счета (увеличению количества эритроцитов). Уве-

личение количества эритроцитов возрастает пропорционально лейкоцитозу. Если количество лейкоцитов превышает 50 г/л, показатель среднего объема эритроцитов может быть искажен.

Причины проявления ложного «эритроцитоза»:

- наличие в крови гигантских тромбоцитов, объем которых превышает 30 фл;
- наличие криоглобулинов.

Причины ложного занижения количества эритроцитов:

- агглютинация эритроцитов;
- выраженный микроцитоз эритроцитов.

В пределах нормы считается значение среднего объема эритроцита 80–100 фл, микроцит – ниже 80 фл, макроцит – выше 100 фл. Гематологические анализаторы в большинстве поддерживают анализ эритроцитов объемом 30–300 фл. Измерение MCV осуществляется одновременно с подсчетом эритроцитов, возможна выдача результатов графически, в виде гистограммы распределения эритроцитов по объему.

Оценка MCV в автоматических анализаторах в ряде случаев может быть затруднительна. В частности, при микросфероцитарной гемолитической анемии диаметр микросфероцитов меньше нормы, тогда как средний объем может находиться в пределах нормы. В подобных случаях прибегают к исследованию мазка периферической крови с измерением диаметра эритроцитов.

Нормальные значения анизоцитоза эритроцитов (RDW) – 11,5–14,5%. Данный показатель характеризует колебания объема эритроцитов. Традиционно анизоцитоз эритроцитов подсчитывается вручную, посредством кривой Прайс-Джонса. В настоящее время для тех же целей задействуются гематологические анализаторы – данный показатель представляет собой коэффициент вариации среднего объема эритроцитов.

Использование гематологических анализаторов для выявления анизоцитоза признано более эффективным, чем задействование визуальных методик. При оценке степени анизоцитоза под микроскопом возможно допущение ряда ошибок, в частности, при высыхании эритроцитов в мазке диаметр их уменьшается на 10–20%, при использовании толстого мазка он меньше, чем в тонком. Автоматизированный подсчет осуществляется на основе кондуктометрического метода, при этом сохраняются стабильность клеток и воспроизводимость результатов.

В зависимости от применяемого прибора, значения показателя RDW может варьироваться для одной и той же пробы крови. Это объясняется различиями в конструкции датчиков прибора и особенностях обработки кривой.

Измерение диаметра эритроцитов и графическая регистрация по величине

Измерение диаметра эритроцитов и графическую регистрацию по величине (эритроцитометрическая кривая, кривая Прайс-Джонса) можно производить с помощью прямых микроскопических и электронно-автоматических методов.

Прямой микроскопический метод. Измерение производят в мазке крови, фиксированном и окрашенном каким-либо методом, с использованием окуляр-микрометра и объектив-микрометра.

Окуляр-микрометр – круглая стеклянная пластинка с нанесенной по ее диаметру шкалой, разделенной на 50 делений, величина которых зависит от разрешающих свойств микроскопа. Объектив-микрометр представляет собой предметное стекло с нанесенной на нем шкалой длиной 2 мм, разделенной на 200 частей (одно деление равно 10 мкм). Вначале определяют цену одного деления окуляр-микрометра, для чего окуляр-микрометр и объектив-микрометр устанавливают так, чтобы их шкалы совпали. Затем отсчитывают число делений окуляр-мик-

рометра, совпадающих с тем или иным количеством делений объектив-микрометра. Например, 20 делений окуляр-микрометра совпали с 3 делениями объектив-микрометра, следовательно, цена одного деления окуляр-микрометра равна 1,5 мкм (20 делений равно 30 мкм, а 1–1,5 мкм). Затем на столик микроскопа кладут окрашенный мазок крови и, зная цену одного деления окуляр-микрометра, измеряют диаметр 200–500 различных эритроцитов. Результаты распределяют по группам в зависимости от величины диаметра и устанавливают в процентах относительную численность каждой группы. Прямой микроскопический метод измерения диаметра эритроцитов трудоемок, отнимает много времени.

Электронно-математический метод. Подсчет частиц в зависимости от их диаметра может производиться счетчиками благодаря наличию амплитудного дискриминаторного устройства, позволяющего пропускать через капилляр и улавливать частицы определенной величины.

Эритрометрическая кривая (кривая Прайс-Джонса) в норме правильной формы с вершиной (пиком) на 7,2 мкм и довольно узким основанием в пределах 6–9 мкм. Размер эритроцитов в микрометрах откладывается по оси абсцисс, количество эритроцитов того или иного диаметра в процентах – по оси ординат.

При макро- и мегалоцитарных анемиях кривая имеет пологую форму с широким основанием (показатель наличия анизоцитоза) с двумя или несколькими вершинами и сдвинута вправо, т. е. в сторону больших диаметров.

При анемиях, протекающих с микроцитозом, микросфероцитозом, кривая также растянута, но сдвинута влево. Увеличение микроцитов регистрируется при железодефицитных анемиях, наследственном микросфероцитозе, свинцовом отравлении, талассемии.

При макроцитарной анемии увеличивается количество макроцитов, а при В₁₂-дефицитных и фолиеводефицитных анемиях их количество достигает более 50%. В этих случаях эритроцитометрическая кривая имеет неправильную форму с широким основанием и сдвигом вправо.

Исследование ретикулоцитов

В норме эритроциты в окрашенных препаратах бесструктурные. Только в молодых эритроцитах (ретикулоцитах) при суправитальной окраске выявляется зернисто-нитчатая барофильная субстанция.

Метод суправитальной окраски бриллиантовым крезиловым синим. Каплю насыщенного раствора бриллиантового крезилового синего в абсолютном спирте наносят на вымытое, обезжиренное и подогретое стекло и делают тонкий мазок. На приготовленное таким образом стекло наносят каплю крови, делают мазок и тотчас помещают стекло во влажную камеру (чашку Петри, на края которой выкладывают смоченные валики марли), выдерживают в ней в течение 3–5 мин, высушивают на воздухе, после чего микроскопируют. Зернисто-нитчатая субстанция окрашивается в фиолетово-синий цвет на зеленовато-голубом фоне эритроцитов.

Лучшая окраска ретикулоцитов достигается способом Гель-Мейера: в пробирке Видаля смешивают несколько капель крови с равным объемом 1%-ного раствора бриллиантового крезилового синего в изотоническом растворе хлорида натрия, закрывают пробкой и оставляют в пробирке на 1 ч, затем из смеси делают мазок на предметном стекле.

При любом способе окраски подсчет ретикулоцитов производится на 1000 эритроцитов (в норме содержание ретикулоцитов в крови в среднем составляет 0,7%, пределы нормальных параметров – от 0,2 до 1,2%).

Наиболее информативным является определение числа ретикулоцитов на разных стадиях развития в окрашенных препаратах. При этом кроме общего количества ретикулоцитов

подсчитывается процентное содержание различных групп ретикулоцитов. Различают по степени зрелости 5 групп ретикулоцитов:

- 1) ретикулоциты содержат ядро, зернистость располагается в виде венчика вокруг ядра (нормоциты);
 - 2) зернисто-сетчатая субстанция в них в виде клубка или глыбки;
 - 3) ретикулоциты имеют зернистость в виде густой сетки;
 - 4) зернистость представлена в виде отдельных нитей;
 - 5) ретикулоциты содержат отдельные зернышки.
- 80% ретикулоцитов здоровых людей могут содержать зернисто-сетчатую субстанцию и отдельные зернышки.

Современные гематологические анализаторы определяют до 10 разнообразных фракций ретикулоцитов. Отношение фракций с 3-й по 10-ю незрелых ретикулоцитов ко всему количеству ретикулоцитов составляет в норме 0,155–0,338 (анализаторы фирмы Бекман).

Увеличение количества ретикулоцитов отмечается при: гемолитических синдромах, остром недостатке кислорода, на 3–5-й день после кровопотери, при В₁₂-дефицитных анемиях на 5–9-й день после лечения.

Уменьшение количества ретикулоцитов определяется при: апластической анемии, гипопластической анемии, метастазах новообразований, приеме цитотоксических препаратов, лучевой терапии, заболеваниях почек.

Изменения эритроцитов при патологии

Морфология эритроцитов определяется при исследовании мазков крови с помощью иммерсионной системы микроскопа.

При свинцовой интоксикации, сидеробластных и мегалобластных анемиях в эритроцитах обнаруживается **базофильная зернистость** – агрегатированная базофильная субстанция в виде синих гранул, обнаруживающаяся в фиксированных (в отличие от ретикулоцитов) мазках крови, окрашенных по Романовскому, но лучше метиленовым синим. Мазок после фиксации в метиленовом синем заливают краской (из Расчета 5 капель 1%-ного водного раствора метиленового синего на 20 мл водопроводной воды) на 1 ч, после чего краску сливают. Мазок высушивают и микроскопируют. Считают 10 000 эритроцитов и отмечают количество эритроцитов с гранулами фиолетово-синего цвета.

Изменение размеров эритроцитов возникает при нарушении синтеза гемоглобина.

Наличие в мазках эритроцитов с диаметром 5–6,5 мкм диагностируется при железодефицитной анемии, талассемии, сфероцитозе.

Тельца Гейнца – маленькие округлые включения в эритроцитах, образованные из денатурированного гемоглобина. Обнаруживаются при воздействии гемолитических ядов, анемиях, вызванных дефицитом глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, глутатионредуктазы и др. Выявляются с помощью окраски метиленовым фиолетовым (метод Дейси): в пробирке смешивают равные количества крови и 0,5%-ного раствора метиленового фиолетового в изотоническом растворе хлорида натрия. Смесь оставляют на 10 мин, затем делают мазки. Тельца Гейнца окрашиваются в пурпурно-красный цвет.

Тельца Жолли – остатки ядра, сохранившиеся в эритроцитах из-за нарушенного обезъядривания нормобластов, имеют округлую форму, окрашиваются в тон хроматина, содержатся в клетке по одному, реже по два. Часто встречаются при мегалобластной анемии, а также при гемолитических анемиях и после спленэктомии.

Кольца Кебота – остатки ядра в виде восьмерки или овала, не содержащие хроматина, происхождение которых связывается с нарушением биосинтеза пистонов. Обнаруживаются преимущественно при мегалобластной анемии и при свинцовой интоксикации.

Железосодержащие гранулы в эритроцитах находят в норме в развивающихся нормобластах (сидеробластах), в части ретикулоцитов и в единичных зрелых эритроцитах (сидеролитах). Представляют собой связанное с митохондриями внутриклеточное железо, не включенное в гемоглобин. Используют окраску на берлинскую лазурь: фиксированные в метаноле мазки костного мозга и периферической крови опускают в смесь, состоящую из равных частей 1%-ного феррицианида калия и 0,1%-ного раствора хлористо-водородной кислоты. Химический стакан с указанной смесью ставят на водяную баню при температуре 50–60 °С на 15–20 мин. Затем препарат вынимают, промывают в проточной дистиллированной воде и докрашивают 0,1%-ным водным раствором сафранина. Зернистые включения в цитоплазме окрашиваются в синий цвет.

Измененные формы эритроцитов и связанные с ними заболевания

Акантоциты. Клетки оснащены шпоровидными наростами различной величины. Картина характерна для цирроза, токсического гепатита, тяжелых форм сфероцитоза, нарушений липидного обмена, гепаринотерапии.

Дакриоциты. Эритроциты каплевидной формы. Характерны для миелофиброза, мелодивной метаплазии, обнаруживаются при росте опухоли при гранулематозе, лимфоме, фиброзе.

Дрепаноциты (серповидные эритроциты). Эритроциты похожи на серп. Мембрана клетки изменяется под действием повышенного количества гемоглобина-*s*. Характерно для гемоглобинопатии, серповидноклеточной анемии

Кодоциты (мишеневидные эритроциты). Эритроциты выглядят как плоские клетки, бледные по краям, с ярким гемоглобиновым пятном в центре. Площадь клетки увеличена из-за избыточного холестерина. Характерны для гемоглобинопатии, железодефицитной анемии, талассемии, болезни печени, отравления свинцом.

Микросфероциты. Шарообразная форма, размеры 4–6 мкм. Характерны для наследственного микросфероцитоза (болезни Минковского-Шоффара).

Стоматоциты. Эритроциты на 1/3 большего размера и объема, просветление по центру в виде полосы. При осаждении напоминают чаши. Картина характерна для наследственного стоматоцитоза и сфероцитоза, опухолей различной этиологии, цирроза печени, алкоголизма

Сфероциты. Эритроциты обычного размера, шаровидной формы, отсутствует светлая область в центре. Характерны для гемолитической болезни новорожденных (несовместимость крови по системе АВ0), спленициемии, аутоиммунных патологий, различных видов анемий.

Элиптоциты (овалоциты), Эритроциты удлиненной или овальной формы по причине аномалий мембраны, отсутствует светлая область в центре. Характерны для талассемии, наследственного овалоцитоза, цирроза печени, ряда анемий (меглобластной, железодефицитной, серповидно-клеточной).

Эхиноциты. Клетки оснащены шипами одинакового размера, расположенными на равном расстоянии друг от друга. Данная форма эритроцитов характерна при раке желудка, уремии, наследственных патологиях, нехватке фосфатов, магния.

Лейкоциты

Жизненный цикл лейкоцитов

Лейкоциты («белая кровь») – это индикаторы состояния организма. Они являются ядро-содержащими клетками крови.

Лейкоциты крови выполняют в организме различные функции. Фагоцитирующие лейкоциты – **нейтральные гранулоциты** вместе с **мононуклеарными макрофагами** – составляют неотъемлемую часть защиты организма от инфекции. Нейтральные гранулоциты характеризуются наличием в цитоплазме двух типов гранул: азурофильных и специфических, содержимое которых позволяет этим клеткам выполнять свои функции.

В азурофильных гранулах содержатся миелопероксидаза, нейтральные и кислые гидролизы, катионные белки, лизоцим. Специфические гранулы имеют в своем составе лизоцим, лактоферрин, коллагеназу, аминопептидазу. 60% общего числа гранулоцитов находится в костном мозге, составляя костномозговой резерв, около 40% – в других тканях и лишь 1% – в периферической крови. Одна часть (примерно половина) гранулоцитов крови циркулирует в сосудах, другая секвестрируется в капиллярах (маргинальный гранулоцитовый пул). Длительность полупериода циркуляции нейтрофильных гранулоцитов равняется 6,5 ч, затем они мигрируют в ткани, где осуществляют свою основную функцию. Основные места тканевой локализации гранулоцитов – легкие, печень, селезенка, желудочно-кишечный тракт, мышцы, почки. Время жизни гранулоцитов зависит от многих причин и может колебаться от нескольких минут до нескольких дней (в среднем – 4–5 дней). Тканевая фаза их жизни является завершающей.

Конец ознакомительного фрагмента.

Текст предоставлен ООО «Литрес».

Прочитайте эту книгу целиком, [купив полную легальную версию](#) на Литрес.

Безопасно оплатить книгу можно банковской картой Visa, MasterCard, Maestro, со счета мобильного телефона, с платежного терминала, в салоне МТС или Связной, через PayPal, WebMoney, Яндекс.Деньги, QIWI Кошелек, бонусными картами или другим удобным Вам способом.