

# ГЕМАТОЛОГИЯ

## Практика 1. Подсчет лейкоформулы в норме и в патологии.

Лейкоцитарную формулу — процентное соотношение различных видов лейкоцитов — подсчитывают в окрашенных мазках крови. Лейкоцитарная формула дает представление только об относительных величинах. Диагностическое значение имеют абсолютные количества отдельных видов лейкоцитов в одном литре крови. Особенно ценны абсолютные значения лейкоцитов в случаях лейкопении и лейкоцитоза. Зная общее количество лейкоцитов в 1 л крови и процентное содержание каждого вида лейкоцитов, можно вычислить абсолютное их число, т.е. определить, сколько клеток каждого вида содержится в 1 л крови. Например, число лейкоцитов в 1 л крови —  $3,0 \times 10^9$ , содержание лимфоцитов 50%. Абсолютное количество лимфоцитов в 1 л крови составит:

$$3 \times 10^9 - 100\%$$

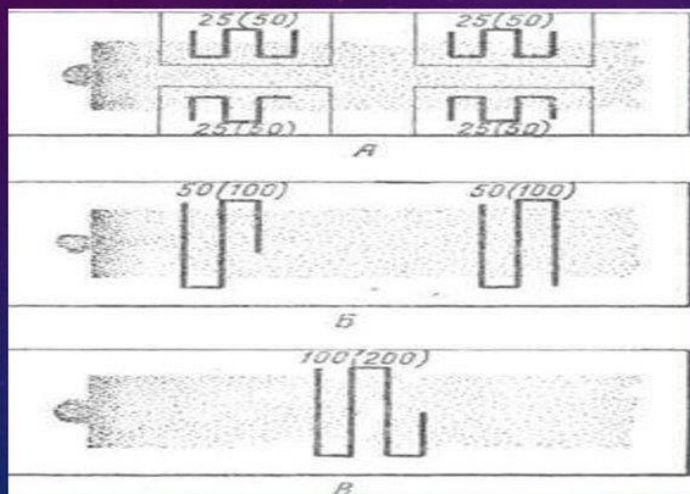
$$X - 50\%$$

$$X = 3 \times 10^9 \times 50 / 100 = 1,5 \times 10^9.$$

Методика подсчета лейкоцитарной формулы с дифференцировкой форменных элементов крови следующая: предметное стекло с окрашенным, высохшим на воздухе мазком крови помещают на столик микроскопа и с помощью малого увеличения находят край мазка. Не меняя положения стекла, наносят каплю иммерсионного масла на край мазка, на место, расположенное под объективом. Переводят иммерсионный объектив в вертикальное по отношению к мазку положение, при этом объектив погружается в каплю масла. Осторожно вращают макровинт до появления в поле зрения микроскопа изображения. Затем с помощью микровинта устанавливают четкую видимость препарата. Критерием правильно подобранного для каждого глаза фокусного расстояния будет ясное изображение клеток с четкими границами и внутриклеточной структурой.

Приступают к дифференцированию лейкоцитов, отличая клетки с помощью счетчика. Необходимо просчитывать не менее 100 лейкоцитов, чтобы получить количество их относительно 100 клеток, т.е. процентное соотношение. В связи с тем, что более крупные клетки (моноциты, нейтрофилы, миелобласты) располагаются больше по периферии, вдоль верхнего и нижнего краев мазка, а более мелкие (лимфоциты) находятся ближе к его центру, подсчет клеток производят всегда по одной и той же схеме: половину клеток считают на одном конце мазка, а другую — на противоположном, подсчет следует вести как по середине, так и по краю мазка в тонкой его части, где хорошо просматривается структура клеток. Считают все встречающиеся лейкоциты, дифференцируя их по видам. При исследовании лейкоцитарной формулы необходимо дифференцировать неразрушенные лейкоциты. Наиболее употребительный метод подсчета заключается в том, что по верхнему и нижнему краю мазка сосчитывают по 50 клеток, двигая его по ломаной линии Меандра (см. рисунок). Просмотрев 5—6 полей зрения по краю, мазок передвигают на 5—6 полей зрения к середине стекла, а затем в сторону настолько же и возвращаются к краю. Снова просматривают край и т.д. Если при исследовании выявляется какой-то патологический процесс, то изучению подлежат 200—400 и даже более лейкоцитов.

## ПОДСЧЕТ ЛЕЙКОЦИТАРНОЙ ФОРМУЛЫ



### Морфологические особенности лейкоцитов

При дифференциации лейкоцитов в окрашенных препаратах имеют значение следующие морфологические признаки:

- величина и форма клетки (молодые клетки преимущественно крупнее зрелых, форма клеток чаще круглая, реже неправильная);
- ядерно-цитоплазматическое соотношение (отношение ядро/цитоплазма обычно тем выше, чем моложе клетка);
- форма ядра и его хроматиновое строение (форма ядра у молодых клеток круглая или слегка вогнутая, рисунок ядра более нежный, цвет более светлый, ядра богаты оксихроматином);
- у зрелых клеток более грубый ядерный хроматин, ядра темно-фиолетового цвета, содержат базихроматин);
- наличие или отсутствие нуклеол в ядре, их число и величина (нуклеолы, обычно светло-синего или светло-фиолетово-синего цвета, присутствуют в ядрах бластных клеток);
- цвет и структура цитоплазмы (цитоплазма молодых клеток базофильна, при созревании становится оксифильной, в ряде клеток вокруг ядра есть просветление);
- наличие в цитоплазме зернистости (величина, цвет), вакуолей, пигментных зерен и фагоцитированных элементов паразитов, эритроцитов).

Лейкоциты периферической крови делятся на гранулоциты и агранулоциты (лимфоциты, моноциты).

Гранулоциты — клетки, в цитоплазме которых определяется зернистость, специфическая для определенного вида клеток: различают нейтрофильную, эозинофильную и базофильную зернистость. Нейтрофильная зернистость розовато-фиолетовой окраски, чаще пылевидная, овальная, не всегда равномерно заполняет цитоплазму. Эозинофильная зернистость однородна по цвету, форме, величине, крупная — занимает всю цитоплазму. В зрелых клетках эозинофильного ряда она имеет кирпично-розовый цвет (кетовая икра), в молодых — коричневый и буро-синий оттенок. Базофильная зернистость чаще фиолетового, реже черного цвета, неоднородна по величине и форме, обычно нестабильна, располагается на ядре и в цитоплазме.

Лимфоциты и моноциты могут содержать азурофильную зернистость розовато-фиолетового цвета, которая называется неспецифической.

Палочкоядерные нейтрофильные гранулоциты — это клетки размером 10–15 мкм, имеющие темно-фиолетовое ядро, узкое, вытянутое в виде палочки средней толщины, часто изогнутой. Структура ядра грубая, неравномерная, крупноглыбчатая, без нуклеол. Цитоплазма розоватого цвета, иногда с фиолетовым оттенком, занимает большую часть клетки, содержит обильную, неравномерную мелкую розовато-синюю или бледно-фиолетовую зернистость.

Сегментоядерные нейтрофильные гранулоциты имеют размер 10–15 мкм, полиморфное узкое ядро разделено на 3–5 отдельных сегментов, соединенных тонкими, не всегда заметными перемычками. Базихроматин ядра скапливается в отдельные грубые комочки, преимущественно по периферии ядра, окрашивая его в темно-фиолетовый цвет. Структура ядра неравномерная, крупноглыбчатая цитоплазма розоватого цвета, содержит обильную, мелкую, бледно-фиолетовую зернистость. Ядерно-цитоплазматическое отношение сдвинуто в пользу цитоплазмы. Полисегментированные нейтрофилы (6–12 сегментов и более) встречаются при патологии — В12-дефицитной анемии, хроническом миелофиброзе, лучевой болезни.

Эозинофильные гранулоциты — клетки размером 12–15 мкм, имеют более крупное ядро, чем у нейтрофилов, и меньшее число сегментов (2 или 3). Ядро рыхлое, окрашивается бледнее, чем у нейтрофильных гранулоцитов, а цитоплазма бледно-розовая (бледно-голубая у палочкоядерных эозинофильных гранулоцитов). Зернистость обильная, крупная, розовая, занимает всю цитоплазму.

Базофильные гранулоциты имеют несколько меньший размер — 8–12 мкм. Ядро сегментоядерных базофилов сравнительно крупное, темноокрашенное, бесструктурное, расплывчатое и редко раздельно более чем на две части. Базофильные сегментоядерные гранулоциты имеют трехсегментированное, сравнительно крупное ядро фиолетового цвета, иногда неопределенной формы или в виде листа растения. Структура ядра неравномерная, крупноглыбчатая; цитоплазма фиолетовая или бледно-розовая, нередко с размытыми участками (часть зерен растворяется в воде), содержит нестабильную, неравномерную зернистость грязноватого темно-фиолетового цвета, расположенную на ядре и в цитоплазме. Сегментоядерные базофилы отличить от палочкоядерных форм в большинстве случаев невозможно из-за обильной зернистости, покрывающей ядро.

Лимфоциты представляют собой уникальную по разнообразию популяцию клеток. В крови здоровых лиц встречается два вида зрелых лимфоцитов. Узкоцитоплазменные лимфоциты встречаются наиболее часто. Это довольно маленькие клетки, размер которых колеблется от 7 до 9 мкм, ядро темно-фиолетовое, крупное, овальное или с небольшими неровностями контуров. Иногда ядро имеет вдавление, что придает ему бобовидную форму. Структура ядра компактная, часто состоит из плотных, грубых комков базихроматина, что создает впечатление глыбчатости, цитоплазма располагается в виде узкого ободка, часто едва заметного, светло-синего цвета, может быть просветление вокруг ядра. Единичные азурофильные включения в узкой цитоплазме практически невидимы.

Широкоцитоплазменные лимфоциты могут достигать 12–13 мкм в диаметре. Это клетки с более бледным ядром, нередко бобовидной формы и широким ободком менее интенсивно окрашенной серовато-синей или голубоватой цитоплазмы. Околоядерное просветление менее отчетливое, чем у лимфоцитов с узким ободком цитоплазмы. Некоторая часть лимфоцитов имеет в цитоплазме неспецифическую азурофильную зернистость, окрашивающуюся в красный или фиолетовый цвет.

Плазмоциты в периферической крови здоровых людей встречаются редко (1 %), ядерно-цитоплазматическое отклонение сдвинуто в сторону увеличения ядра. Ядро обычно крупное, но иногда с одной или несколькими выемками, расположено в центре клетки или эксцентрично. Плотный хроматин распределяется неравномерно, в основном сконденсирован вдоль ядерной мембраны. В ядре видно одно, реже два ядрышка, имеющих компактную или кольцевидную форму.

Моноциты — самые крупные клетки, размером 12–20 мкм. Ядро занимает большую или равную с цитоплазмой часть клетки, светло-фиолетовое, иногда голубоватое или красно-фиолетовое, полиморфной формы — округлое, бобовидное, трехлопастное с нежной, равномерной, крупносетчатой структурой (как бы разрезано). Нити базихроматина в виде извилистых, грубых тяжей образуют широкую сетку с утолщениями. В ячейках сетки имеются значительные просветления за счет оксихроматина. Цитоплазма бледно-голубая или сероватая, иногда синяя, часто содержит в большом количестве мелкую, пылевидную, азурофильную зернистость. Нередко в цитоплазме содержатся вакуоли, расположенные вокруг ядра, фагоцитированные клетки, пигментные зерна.

Нормальные показатели лейкоцитарной формулы взрослого человека следующие: 1. Базофилы – 0–1%; 2. Эозинофилы – 0–5%; 3. Палочкоядерные нейтрофилы – 1–6%; 4. Сегментоядерные нейтрофилы – 45–70 %; 5. Лимфоциты – 18–40%; 6. Моноциты – 2–9%. В норме абсолютное содержание составляет: нейтрофилов –  $2,01 \times 10^9$  –  $5,8 \times 10^9$ /л, эозинофилов –  $0$  –  $0,3 \times 10^9$ /л, базофилов –  $0$  –  $0,06 \times 10^9$ /л, лимфоцитов –  $1,2 \times 10^9$  –  $3,0 \times 10^9$ /л, моноцитов –  $0,09 \times 10^9$  –  $0,6 \times 10^9$ /л.

При различных патологических состояниях в периферической крови появляются незрелые формы лейкоцитов, которые в норме отсутствуют.

Миелобласт – родоначальная клетка гранулоцитарного ряда, диаметром 15-20 мкм. Ядро округлой формы занимает большую часть клетки, окрашено в красно-фиолетовый цвет, имеет нежно-сетчатую структуру хроматина, содержит от 2 до 5 ядрышек синеголубого цвета. Ядро окружено узким пояском ярко-синей (базофильной) цитоплазмы, в которой содержится в небольшом количестве красная (азурофильная) зернистость.

Промиелоцит – крупная клетка, достигающая 25 мкм в диаметре, созревающие клетки. Ядро овальной формы занимает большую часть клетки, окрашено в светло-фиолетовый цвет, имеет тонкую сетчатую структуру; в нем можно видеть ядрышки. Цитоплазма широкая, голубого цвета, содержит обильную красную, фиолетовую или коричневую зернистость. По особенностям зернистости можно определить видовую направленность промиелоцита: нейтрофильную, эозинофильную или базофильную.

Миелоциты – более зрелые клетки гранулоцитарного ряда диаметром 12 – 16 мкм. Ядро овальной формы, эксцентрично расположенное, светло-фиолетового цвета. Структура его более грубая, чем у промиелоцита, ядрышек нет. Цитоплазма окружает ядро широким поясом, окрашена в светло-фиолетовый цвет, содержит зернистость. В зависимости от характера зернистости различают миелоциты нейтрофильные, эозинофильные и базофильные. Нейтрофильная зернистость мелкая, синефиолетового цвета, эозинофильная – крупная, желтокрасного цвета, базофильная – темно-синего цвета.

Метамиелоциты – клетки диаметром 12-13 мкм с бобовидным эксцентрично расположенным ядром бледнофиолетового цвета, компактной структуры. Ядро окружено широкой цитоплазмой розоватого цвета, которая содержит нейтрофильную, эозинофильную или базофильную зернистость.

При острых лейкозах в периферической крови могут появляться бласты. Бластные клетки отличает полиморфизм; изменение формы ядра и цитоплазмы; вакуолизация ядра и цитоплазмы; нежный, сетчатый хроматин ядра; базофилия цитоплазмы на всем протяжении; увеличение числа нуклеол (до 8 и более), размер их может достигать  $\frac{1}{3}$  —  $\frac{1}{2}$  диаметра ядра; резко выраженная зернистость в цитоплазме. Наличие палочек Ауэра — это соединенные в линейную структуру азурофильные гранулы.

**!!! ЗАДАНИЕ – изучить материалы, представленные на слайдах. Идентифицировать лейкоциты, представленные на последнем слайде. Прислать ответ с указанием номера клетки и ее название в срок до 23.04.2020г. (присланные позже рассматриваться не будут !!!) НА ЭЛ. АДРЕС [mirsaitova73@mail.ru](mailto:mirsaitova73@mail.ru)**