В.В. Базарный,
А.Ф. Томилов

ЦИТОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА БОЛЕЗНЕЙ КРОВИ

ISBN 978-5-00168-015-4

Министерство здравоохранения Российской Федерации

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Уральский государственный медицинский университет»

В.В. Базарный, А.Ф. Томилов

ЦИТОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА БОЛЕЗНЕЙ КРОВИ

Монография

**2-е издание,
переработанное и дополненное**

Екатеринбург
2022

УДК 616.15-076.5
ББК 54.11-4
Б 172

Печатается по решению Научного совета ЦНИЛ
ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России
(протокол № 2 от 06.05.2022)

Научный редактор
д-р мед. наук, проф. В.В. Базарный

Рецензент
д-р мед. наук, проф. С.А. Луговская

Базарный, В. В.

Б 172 **Цитологическая диагностика болезней крови : Монография** / В. В. Базарный, А. Ф. Томилов ; ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России. — Екатеринбург : Изд-во ООО «ИИЦ «Знак качества», 2022. — 112 с. : ил. ; 21 см. — Библ. 108-111. — 100 экз. ; ISBN 978-5-00168-015-4 . — Текст : непосредственный.

В книге представлен материал по методическим вопросам и клинической оценке цитологического исследования костного мозга. Несмотря на появления высокотехнологичных методов иммунологических и молекулярно-биологических методов исследования кроветворной ткани, классический морфологический анализ с помощью светооптической микроскопии остается первым и важнейшим этапом диагностического маршрута пациента с заболеванием системы крови. Поэтому традиционные подходы к оценке кроветворения сохраняют свою актуальность. В соответствующих главах приведены характеристика клеток крови в норме и патологии, клинические примеры, традиционные и редкие цитологические картины.

Данная книга предназначена прежде всего специалистам клинико-диагностических лабораторий. Она может быть интересна научным сотрудникам, терапевтам, гематологам, а также ординаторам при изучении дисциплинарного модуля «Лабораторная гематология» в качестве дополнительного учебного пособия.

УДК 616-092
ББК 52.52

© Базарный В.В., 2022
© Томилов А.Ф., 2022
ISBN 978-5-00168-015-4
© ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России, 2022

Оглавление

Предисловие 4

Глава 1.
ТЕХНИКА РАБОТЫ С ЦИТОЛОГИЧЕСКИМИ
ПРЕПАРАТАМИ КРОВИ И КОСТНОГО МОЗГА 5

Глава 2.
МОРФОЛОГИЯ ЭРИТРОИДНЫХ КЛЕТОК
В НОРМЕ И ПАТОЛОГИИ 24

Глава 3.
МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ
ГРАНУЛОЦИТОВ В НОРМЕ И ПАТОЛОГИИ 40

Глава 4.
МИЕЛОДИСПЛАСТИЧЕСКИЕ СИНДРОМЫ 62

Глава 5.
ТУЧНЫЕ КЛЕТКИ 71

Глава 6.
ЛИМФОЦИТЫ 75

Глава 7.
МОНОЦИТЫ И МАКРОФАГИ 83

Глава 8.
МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ КЛЕТОК
МЕГАКАРИОЦИТАРНО-ТРОМБОЦИТАРНОГО
ДИФФЕРОНА 90

Глава 9.
ЦИТОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
КОСТНОГО МОЗГА ПРИ РЕДКИХ И НЕОБЫЧНЫХ
ЗАБОЛЕВАНИЯХ 100

Заключение 106

Список сокращений 107

Литература 108

Предисловие

Эта книга была задумана и начата выдающимся врачом и необыкновенным педагогом А.Ф. Томиловым. В ней представлено более 100 микрофото препаратов, которые были им лично собраны и тщательно исследованы в течение нескольких десятилетий. Данное издание не является учебником или классическим атласом. Оно содержит основные морфологические характеристики клеток и форменных элементов крови в норме и патологии, материал расположен не по нозологическому принципу. На наш взгляд, это будет полезным и начинающим, и опытным специалистам в области лабораторной гематологии.

К сожалению, Александру Федоровичу не суждено было увидеть свое детище в завершенном виде. Книга была издана уже после его смерти в 2017 году и сразу вызвала позитивный отклик у специалистов, что побудило нас подготовить второе издание. Оно переработано и дополнено иллюстрациями не только А.Ф. Томилова, но и некоторыми опубликованными в научных изданиях материалами. Надеемся, что результаты труда А.Ф. Томилова еще долгие годы будут служить специалистам клинической лабораторной диагностики.

Я выражаю искреннюю признательность доктору медицинских наук, профессору С.А. Луговской за конструктивные советы, а также врачам клинико-гематологической лаборатории Свердловской областной клинической больницы № 1 за техническую помощь.

В.В. Базарный,
доктор медицинских наук, профессор
главный научный сотрудник отдела общей патологии ЦНИЛ
Уральского государственного медицинского университета

Глава 1. ТЕХНИКА РАБОТЫ С ЦИТОЛОГИЧЕСКИМИ ПРЕПАРАТАМИ КРОВИ И КОСТНОГО МОЗГА

Последние десятилетия характеризуются бурным внедрением в клиническую лабораторную диагностику современных автоматизированных аналитических систем — гематологических анализаторов и проточных цитометров, появлением новых молекулярно-генетических технологий в онкогематологии, которые обладают высокой точностью, специфичностью и производительностью. В результате врачи получают новую и более ценную диагностическую информацию о состоянии системы крови у пациента. Но это не уменьшает значимости цитологического исследования пунктатов, аспиратов, биоптатов, а микроскопия мазков крови и костного мозга по-прежнему остается золотым стандартом лабораторной диагностики болезней системы крови. Залогом эффективности этой деятельности является корректное выполнение всех этапов технологии цитологического исследования: приготовление и окраска мазков, микроскопия и интерпретация результата [1]. Ниже приведены основные особенности преаналитического этапа при исследовании препаратов крови и костного мозга.

Подготовка предметных стекол, детально описанная в первом издании книги, уже не является столь актуальной задачей, поскольку многие лаборатории перешли на использование только одноразовых предметных стекол. Они должны быть чистыми, обезжиренными и не иметь повреждений.

Техника приготовления препарата крови и костного мозга осталась традиционной. Каплю венозной или капиллярной крови наносят на край предметного стекла. Для распределения материала по стеклу используют спредер (предметное стекло или специальный пластиковый шпатель). Он должен быть на 5–6 мм уже предметного стекла, достаточной длины, чтобы удобно было держать в руке во время приготовления мазка, и иметь хорошо отшлифованный прямой конец, чтобы не было продольных полос на мазке и зазубрин на его конце. Если это обычное пред-

метное стекло, то оно должно быть со шлифованным краем. В одном из руководств по лабораторной диагностике начала XX века указано, что в качестве такого спредера можно использовать покровное стекло от камеры Горяева, и это подтверждено нашим собственным опытом.

Порядок действий при приготовлении мазка периферической крови или костного мозга следующий:

– на предметное стекло (примерно на один сантиметр от правого конца) наносят небольшую каплю крови или аспирата костного мозга; она должна быть такой, чтобы длина мазка составила около 2/3 длины предметного стекла;

– пальцами левой руки придерживают предметное стекло, предотвращая его смещение; спредер (предметное стекло со шлифованным краем, или пластиковая «лопаточка», для распределения капли крови) плотно прижимают к предметному стеклу параллельно его узкому краю перед каплей крови и немного сдвигают назад, чтобы капля крови растеклась вдоль прижатого края спредера (рис. 1); затем спредер перемещают перед каплей крови (костного мозга).

Рис. 1. Приготовление мазка

Достаточно быстрым движением, держа мазок под нужным углом, перемещают вдоль предметного стекла; мазок должен отстоять от каждого края предметного стекла не менее чем на 2–3 мм. Угол наклона и скорость перемещения спредера зависят от размеров капли и предполагаемой нужной толщины мазка: при анемии угол наклона увеличивают, а скорость движения уменьшают, при эритроцитозе угол наклона уменьшают, а скорость движения увеличивают. В нескольких руководствах по клинической лабораторной диагностике начала XX века отмечено, что мазки отличного качества получаются при использовании в качестве спредера покровного стекла от камеры Горяева, и наш собственный опыт это подтверждает.

Мазки высушивают на воздухе. Высохший мазок должен быть равномерно тонким, желтоватого цвета, достаточной вели-

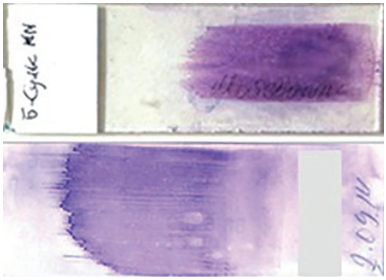


Рис. 2. Мазки периферической крови хорошего качества, хотя нижний мазок сделан широковатым спредером

чины (располагаться на 1–1,5 см от краев, занимать почти всю длину стекла) и оканчиваться «метелочкой». Толстые (густо-розового цвета) мазки не следует использовать, так как в них морфология клеток плохо различима (рис. 2).

Несоблюдение этих рекомендаций приводит к различным дефектам, мешающим правильным выводам по результатам исследования или потере иногда очень ценной информации. Примеры разного качества мазков крови представлены на рисунке 3.

Рис. 3. Мазки крови. А — для мазка взята большая капля материала, много крупных и гигантских клеток (мегакариоциты, остеокласты и другие макрофаги) окажется в капле за пределами мазка; мазок широкий, с одной стороны идет по краю стекла, где также больше крупных клеток и их не удастся увидеть. Б — та же картина, стрелками показаны остатки материала, отодвинутые сильным давлением шпателя

Ниже приведены дефекты приготовления мазков костного мозга (рис. 4).

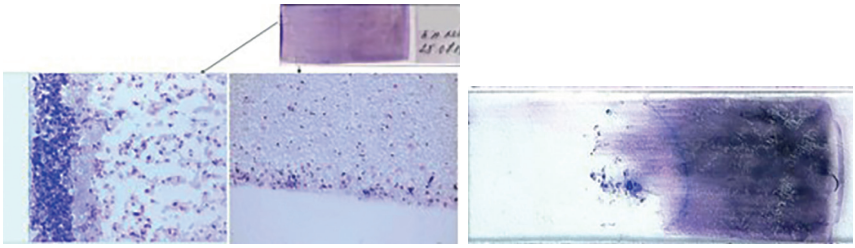


Рис. 4. Костный мозг. Дефект приготовления мазка. Судить о клеточности аспирата по этому мазку трудно, она кажется недостаточной, но есть сомнения: взята большая капля крови, поэтому много клеток оказалось в конце (А) и по краю мазка (Б). Двойной дефект препарата: раздавленные непросушенные крупинки костного мозга и участок мазка, просветленный иммерсионным маслом, что свидетельствует о плохом качестве обработки бывшего в употреблении стекла (В)

Раздел «Окрашивание мазков крови и костного мозга» представлен ниже.

Маркировка мазка

На препарате должна быть указана фамилия пациента, дата и вид материала. Лучше всего, если на одном конце стекла есть специальное матовое место для записи. Можно сделать надпись полутвердым графитным карандашом прямо на мазке, выбирая место, где микроскопия маловероятна. Иногда также используют маркер с водонерастворимыми чернилами или наклейки из липкой бумаги, которые наклеивают после окраски. К маркировке добавляется шифр, под которым препарат записан в журнале.

Транспортировка и хранение мазков

Не менее серьезного отношения требуют транспортировка и хранение препаратов. При транспортировке не допускается контакт предметного стекла с нативным материалом и бланка-направления в соответствии с правилами биологической безопасности. Если для транспортировки препараты заворачивают в бумагу, мазки не должны с ней контактировать. Стекла кладут друг на друга, последний — мазком вниз. Это относится как к нефиксированным и неокрашенным мазкам, так и к окрашенным, в противном случае могут возникнуть проблемы при исследовании таких препаратов (рис. 5).

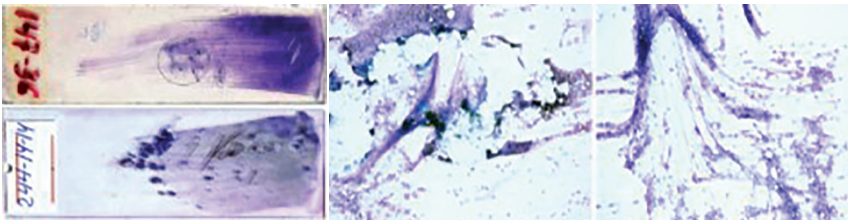


Рис. 5. Препараты костного мозга. А — непросушенные мелкие (вверху обведены) и крупные частицы (внизу) аспирата были раздавлены вторым стеклом, положенным на мазок). Б — костный мозг. Окраска азур-эозин, × 40. В «усиках» мазка костного мозга были невысохшие частички аспирата. Когда поместили стекла друг на друга, эти частички сплюснулись, и хроматин ядер слился в единую массу или вытянулся в виде нитей. Этот дефект мешает увидеть крупные клетки, которые часто находятся в конце мазка

Хранить препараты надо в темном месте, недоступном для насекомых. В лаборатории должен существовать «цитологиче-

ский архив», для чего необходимо выделить помещение, специальные шкафы (ящики). Окрашенные мазки костного мозга архивируют и хранят вместе с журналами регистрации в течение времени, установленного в лаборатории (как правило, не менее года и не более 20 лет). Нарушение правил хранения мазков крови и костного мозга также может привести к появлению различных дефектов.

Исследование мазка периферической крови

В настоящее время в клинико-диагностических лабораториях (КДЛ) широко используются гематологические анализаторы, позволяющие получить общий (клинический) анализ крови (гемограмма). При выявлении патологических или «неопределенных» параметров содержания количества клеток или их морфологии гематологические анализаторы подают «сигналы тревоги» или «флаги», например:

DIFF — атипичные лимфоциты > 5% от всех лимфоцитов, аномальные моноциты > 3%, незрелые гранулоциты, бласты;

BAND — палочкоядерные нейтрофилы > 12,5% от всех лейкоцитов, или палочкоядерые нейтрофилы >5% от всех нейтрофилов;

BLAST — бласты > 1%, атипичные лимфоциты > 5%, моноциты > 20%, незрелые гранулоциты > 3%; часто указывают на лейкоз;

VAR LYM, Abnormal lymph, Atypical lymph — атипичные лимфоциты > 5%, аномальные моноциты > 3%, реактивные лимфоциты, тени Гумпрехта;

RRBC — резистентные к гемолизу эритроциты, ретикулоциты;

Negative (отрицательные) — обнаружение патологических изменений лейкоцитов, например, отсутствие миелопероксидазы (МПО).

Здесь приведены лишь некоторые примеры, которыми не исчерпывается весь перечень «флагов», указывающих на отклонение гематологических параметров от установленных границ.

При наличии «флагов», а также других признаков, возникает необходимость микроскопического исследования («пересмотра») надлежащим образом приготовленного и хорошо окрашенного мазка. Его целями могут быть верификация результатов автоматизированного анализа, помеченного «флагами» (в том числе оценки количества тромбоцитов), при необходимости —

«ручной» подсчет лейкоцитарной формулы, оценка морфологических особенностей форменных элементов крови. Это исследование должно выполняться квалифицированным специалистом. Желательно, чтобы в лаборатории были установлены критерии отбора мазков крови для микроскопии врачом. Так, например, в литературе [2] представлены критерии как для просмотра, так и детального исследования мазка с подсчетом лейкоцитарной формулы и оценкой морфологии клеток в Университетской клинике Томаса Джефферсона (табл.).

Таблица

Критерии отбора мазков периферической крови для микроскопии

Критерии отбора для просмотра мазка	Критерии отбора для детального изучения мазка
Лейкоциты: < 2x10^9/л или > 30 x 10^9/л	Лейкоциты: > 30 x 10^9/л
Гемоглобин: < 80 г/л, у детей до 7 лет — < 140 г/л	Гемоглобин: < 106 г/л или > 180 г/л, у детей до 7 лет — < 140 г/л
Эритроциты: > 6 x 10^{12}/л	Эритроциты: > 6 x 10^{12}/л у женщин и > 6,5 x 1012/л у мужчин
MCV: < 60 или > 110 fl, у детей до 7 лет < 85 или >125 fl	
Тромбоциты: < 100 x 10^9/л или > 999 x 10^9/л	Тромбоциты: < 50 x 10^9/л или > 999 x 10^9/л
NRBC: > 2:100 лейкоцитов, у детей до 7 лет — > 50:100	
Лейкоцитарная формула (x 10^9/л): Лимфоциты : > 7, у детей до 7 лет > 14,0 Моноциты: > 3 Эозинофилы: > 2,0 Базофилы: > 0,5	
Качественные флаги — WBC скатерограмма, незрелые гранулоциты, сдвиг влево, атипичные лимфоциты, бласты эритроидные ядерные клетки	Бласты или другие неклассифицируемые клетки — любое количество Промиелоциты: > 3% Миелоциты: > 5% Метамиелоциты: > 10% Реактивные лимфоциты: > 10% Качественные флаги — значительные морфологические аномалии, требование клинициста.

При просмотре мазка особенно важна верификация счета тромбоцитов, поскольку известное явление псевдоагглютинации приводит к существенной ложной тромбоцитопении. Для этого необходимо сначала просмотреть весь мазок крови на малом увеличении в поисках скоплений тромбоцитов. При исследовании на большом увеличении и с использованием иммер-

сионной системы следует отметить фрагменты эритроцитов, наличие микроорганизмов, гигантских тромбоцитов, так как это часто ассоциируется с ложным высоким или низким количеством тромбоцитов.

Исследование костномозгового аспирата

В 2022 году исполняется 95 лет с первого прижизненного исследования костного мозга, выполненного выдающимся гематологом Михаилом Иннокентьевичем Аринкиным. Современный подход к получению костного мозга и процедуре его обработки, представленный ниже, основан на рекомендациях Международного союза по стандартизации в гематологии (ICSH) [3, 4].

Полученный при аспирационной стернальной пункции костный мозг делят на 2 порции, одна из которых используется для посчета миелокариоцитов, другая — для приготовления препаратов костного мозга. Иногда возникает необходимость в использовании стабилизатора (чаще — это натриевая или калиевая соль ЭДТА), что, как показывают результаты одного из проведенных исследований, не оказывает влияния на результаты приготовления и окраски мазков [5].

Для подсчета миелокариоцитов часть аспирата с помощью пипетки Сали переносят в пробирки с нужным количеством 3,5%-ой уксусной кислоты, получая разведение в 200 раз (например, 0,02 мл аспирата и 4 мл разводящей жидкости), быстро перемешивают и ставят пробирки в штатив. Подсчет клеток (цитоз аспирата) проводится в камере Фукса-Розенталя, результат выражается абсолютным содержанием всех ядросодержащих клеток (миелокариоцитов) в 1 мкл. Так же, но с меньшим разведением (1/20), подсчитывают количество мегакариоцитов в 1 мкл. При отсутствии камеры Фукс-Розенталя используют камеру Горяева. При высокой клеточности пунктат костного мозга перед подсчетом можно дополнительно развести в 5 или 10 раз 3,5%-ым раствором уксусной кислоты, учитывая это при расчете количества клеток по формуле.

В некоторых гематологических анализаторах имеется функция подсчета ядросодержащих клеток в костном мозге.

Из полученного пунктата лаборант приготавливает мазки. В соответствии с рекомендациями ICSH [4] готовят 6–8 препаратов двумя способами. Первый способ (2 стекла) заключается в раздавливании «крошки» аспирата (удалив по возможности примесь крови) между двумя предметными стеклами, которыми

вначале осторожно сдавливают материал, а затем перемещают их по длине стекла в разные стороны, равномерно распределяя аспират. Такой способ позволяет получить препарат с высокой клеточностью и клетками стромы. Второй способ аналогичен описанному выше при приготовлении мазков крови. Рекомендуется так приготовить 4–6 препаратов. В результате можно получить препараты с разным количеством клеток (рис. 6).

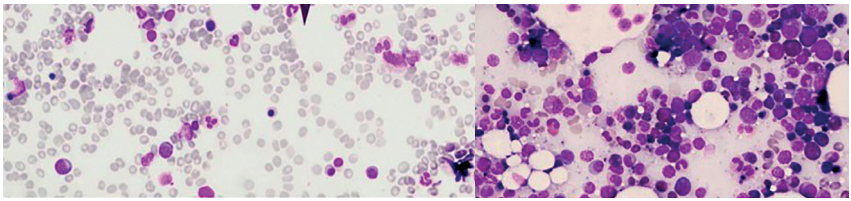


Рис. 6. Костный мозг (окраска азур-эозин).
А — обычный тонкий мазок, × 100. Б — «раздавленный» препарат, × 400 [5]

Следует отметить, что при сравнении цитологического состава одного образца костного мозга, но в препаратах, приготовленных разными способами, найдены отличия. Так, из 250 обследованных пациентов различия между двумя сравниваемыми методами были выявлены у 13 пациентов с неходжкинской лимфомой, у семи пациентов — с системным мастоцитозом и у 11 пациентов — с острыми лейкозами, миелодиспластическими синдромами, хроническим миеломоноцитарным лейкозом. Основными причинами наблюдаемых различий, по-видимому, были разбавление костного мозга клетками крови и очаговый рост многих опухолевых клеток. В целом же авторы пришли к выводу, что «раздавленный» препарат более предпочтителен [6].

Окрашивание мазков крови и костного мозга

Препарат крови или костного мозга должен быть прежде всего зафиксирован (метанол, этиловый спирт, фиксатор-краситель Май-Грюнвальда или др.), окрашен стандартными гематологическими методиками азур-эозиновой смесью (окраска по Романовскому, по Нохту и др.). Хорошие результаты окраски гематологических препаратов мы получаем при одновременной фиксации-окраске (окраска по Лейшману, по Паппенгейму-Крюкову, по Романовскому в модификации Филипсона). Из доставленных в лабораторию мазков костного мозга 2–3 окрашивают по стандартным методикам. Оставшиеся препараты предназна-

чены для консультации у гематолога (при необходимости) или для проведения цитохимических исследований.

В последние годы в лабораторной практике появились автоматические устройства для окрашивания мазков крови и костного мозга, но и ручные методики позволяют получать окраску препаратов хорошего качества. В частности, именно так окрашены мазки, микрофотографии которых представлены в данной книге.

При нарушении методики окрашивания возникают следующие дефекты [7]:

– *слишком синие ядра* — при низкой концентрации эозина;

– *сине-черный цвет клеток* — при неправильном приготовлении краски, хранении красителя на ярком свету, использовании неочищенных и загрязненных красителей, коротком времени окрашивания, кислой реакции красителя, слишком толстом мазке;

– *слишком розовый цвет* — неправильно выбрана пропорция азура и эозина; неочищенные красители; низкое значение pH буфера, излишнее промывание в буферном растворе;

– *бледное окрашивание* — старый красящий раствор; неправильно приготовлен исходный раствор; неочищенные красители; высокая температура окружающей среды;

– *не прокрашены гранулы нейтрофилов* — недостаточное содержание азура в краске;

– *гранулы нейтрофилов темно-синие/черные (псевдотоксические)* — избыточное содержание азура;

– *другие аномальные окрашивания* — загрязнение красителей примесями;

– *осадок краски на мазке* — красящий раствор хранился в незакрытой емкости, не был профильтрован;

– *синий фон* — неадекватная фиксация или слишком длительное хранение мазка до фиксации; использование гепарина как антикоагулянта.

Стандартные способы окраски проводятся как в вертикальном положении стекол в специальных кюветах, так и в горизонтальной плоскости на «салазках». В последнем случае могут возникнуть различные артефакты. В частности, к ним относят посторонние объекты, попавшие на мазок при фиксации и (или) окраске (рис. 7).

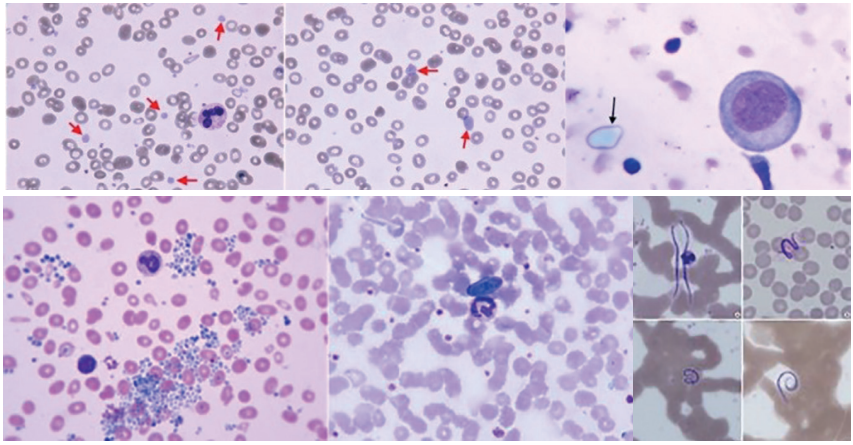


Рис. 7. Артефакты при фиксации и окрашивании гематологических препаратов. А — частицы нефильтрованной краски имитируют тромбоциты и полихроматофильные эритроциты (стрелки); справа — частица латекса (черная стрелка). Б — посторонние объекты, попавшие на мазок при фиксации и (или) окраске. В — мазок периферической крови, в котором обнаружена микроскопическая зеленая водоросль рода Helicosporium, которая могла содержаться в воде, используемой при окраске препарата; поскольку она имеет спиральную форму, в мазке крови имитирует микрофилярию. Окр.по Райту, × 1,000 [8]

На качество препарата также влияют условия окрашивания. Например, от особенностей фиксации и окраски, от pH воды и красителя зависит цвет гранул эозинофилов (рис. 8). Отдельные гранулы в эозинофильных промиелоцитах, миелоцитах, метамиелоцитах могут быть необычными — сине-фиолетовыми.

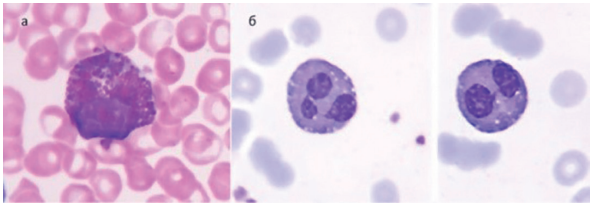


Рис. 8. Эозинофилы в мазке периферической крови при различных pH красителя: а — нормальная окраска, эозинофильный миелоцит с неравномерным распределением гранул в цитоплазме; б — эозинофилы при щелочной реакции красителя

При хорошей окраске эозинофильные гранулы часто, но не обязательно выглядят кольцевидными. Поместив на 1–3 секунды окрашенный мазок в уксусную воду, можно увидеть голубое

облачко смываемого азура, после чего эритроциты и эозинофильные гранулы становятся оксифильными. Данный пример еще раз демонстрирует, как важно соблюдать технику окрашивания мазка крови для получения адекватной морфологической картины клетки.

Иногда качество мазка определяется не дефектами его приготовления и окрашивания, а физико-химическими свойствами крови пациента. Например, при гипертриглицеридемии в эритроцитах выявляют капли жира (рис. 9).

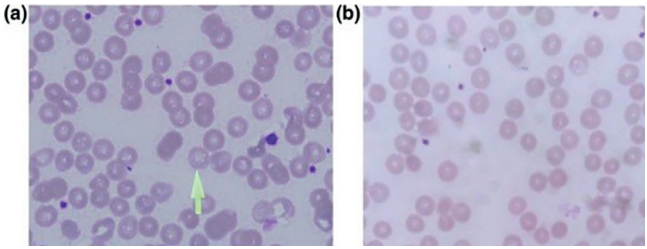


Рис. 9. Мазок крови пациента с высоким уровнем триглицеридов (13 311 мг/дл) в плазме до лечения (a), зеленая стрелка указывает на капли жира в эритроцитах; и после снижения концентрации триглицеридов до 3009 мг/дл. (b). Окраска по Райту, × 100 [9]

Другой пример — агглютинация эритроцитов при гемолитической анемии с наличием холодовых агглютининов (рис. 10).

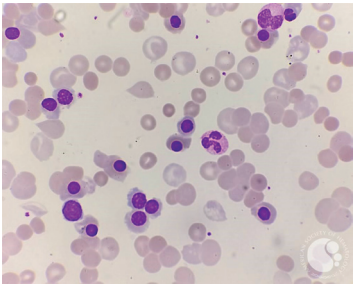


Рис. 10. Мазок периферической крови пациентки с аутоиммунной гемолитической анемией. В анализе крови гемоглобин — 40 г/л, в мазке – агглютинаты эритроцитов, ядерные эритроидные клетки (источник - Dr. Pradeep Arumugam, http://imagebank.hematology.org)

Оценка окрашенных препаратов проводится по внешнему виду и под микроскопом с разным увеличением. При осмотре мазка костного мозга невооруженным глазом можно увидеть и оценить:

– толщину мазка и изменение ее от начала к концу;

– темные крупинки различного размера (частиц костного мозга), преимущественно в конце мазка;

– очень мелкие темные точки в конце мазка, сливающиеся в одну линию, или длинные извилистые сплошные линии (это нити фибрина с адгезированными клетками);

– крупные, различной формы, толщины и цвета пятна и другие артефакты.

Нарушение техники приготовления и окраски мазков часто приводит к скоплению клеток, особенно крупных, в толстых каплях. Образование нитей фибрина, что видно в мазках костного мозга (рис. 11), может быть обусловлено синдромом ДВС, но длительная манипуляция получения аспирата костного мозга также способствует началу его свертывания. Отсутствие или очень небольшое количество адгезированных тромбоцитов к нитям фибрина убедительно свидетельствует в пользу тромбоцитопении.

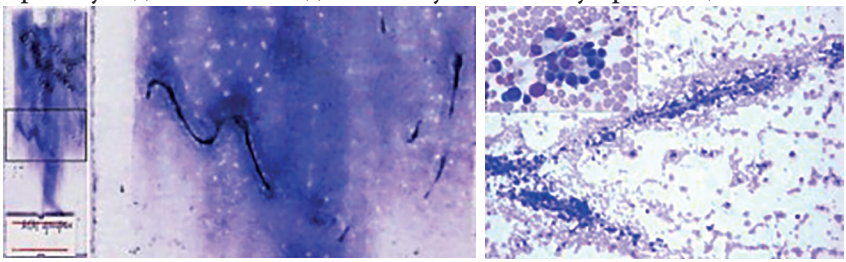


Рис. 11. А — в конце мазка видны темные полоски —это нити фибрина с прилипшими к ним клетками; Б — костный мозг. Окраска азур-эозин, × 100. Нити фибрина, окруженные различными клетками. На врезке вверху слева (× 1000) — фрагмент поля зрения, где фибрин разрезает эритроидный островок

Исследование мазка костного мозга

Микроскопическое исследование мазка костного мозга начинают под малым увеличением (объектив 10×, затем 20× или 25×), обращая внимание прежде всего на конец и края препарата. На малом увеличении оценивают качество мазка, ориентировочно — клеточность костного мозга (рис. 12), исключают метастазы рака в костный мозг.

Ниже представлен препарат с высокой клеточностью костного мозга (рис. 13).

Необычные клетки, их группы и комплексы следует отмечать на препарате, чтобы позднее, при повторном просмотре, их легко было найти (рис. 14). Это важно при сомнении в правильной оценке клеток. Метки желательно делать в виде небольшого кольца на противоположной поверхности стекла.

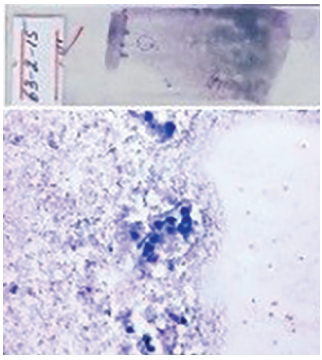


Рис. 12. Костный мозг (окраска азур-эозин, × 100). Нормальная клеточность костного мозга, в конце мазка видно много мегакариоцитов. На мазке (вверху) показано поле зрения, представленное на нижней части рисунка

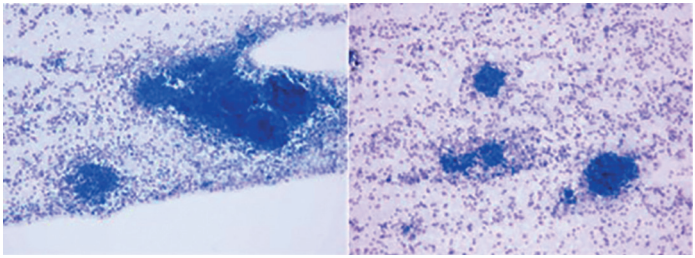


Рис. 13. Костный мозг (окраска азур-эозин, × 100). Во фрагментах ткани отсутствуют жировые клетки, что свидетельствует об очень высокой клеточности

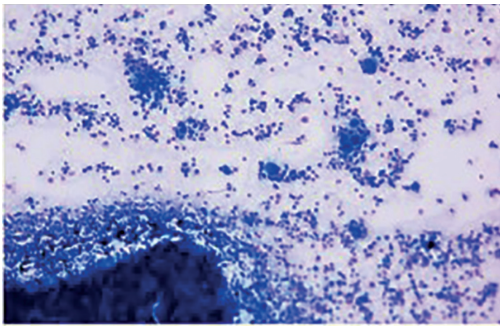


Рис. 14. Костный мозг (окраска азур-эозин, × 100). В «усиках» мазка костного мозга плотные крупинки. В них нет жировых клеток. Много мегакариоцитов. По этой картине при соответствующей клинике и анализу крови у взрослого человека уже можно предположить наличие миелопролиферативного новообразования (МПН)

Технически метка делается следующим образом: после нахождения клетки под иммерсионным объективом тубус микроскопа быстро поднимают (или опускают столик, это зависит от конструкции микроскопа), быстро поворачивают стекло вниз мазком; проекцию капли, которая хорошо видна на темном фоне стола, обводят карандашом или маркером (водонерстворимые чернила!); после этого просматривают мазок, чтобы проверить, правильно ли сделана метка, и при надобности сделать ее коррекцию.

Для ориентировочной оценки клеточности костного мозга просматривают весь препарат на малом увеличении. Количество миелокариоцитов считается нормальным, если при просмотре препарата иммерсионным объективом в каждом поле зрения встречается 15–25 миелокариоцитов. Количество мегакариоцитов также рекомендуется оценивать не только в счетной камере, но и по мазкам.

На малом увеличении могут быть обнаружены метастазы рака в костный мозг (рис. 15).

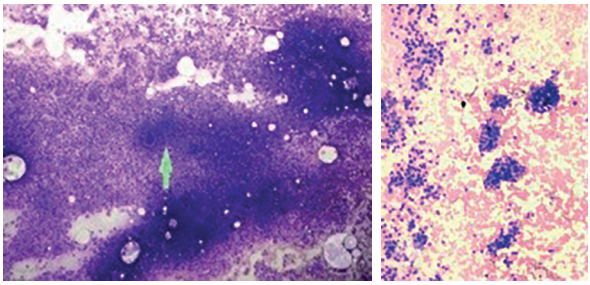


Рис. 15. Костный мозг. А — метастаз рака молочной железы в костный мозг (окраска по Райту, ув. × 100) (фото N. P. Zapata, сайт www.hematology.org, опубликовано 02.19.2018); Б — метастаз рака простаты (окраска по Романовскому, × 100)

Далее выбирают участок мазка для количественной оценки, который должен быть тонким (все клетки располагаются в один слой) и в то же время клеточным — содержать преимущественно костномозговые элементы. Затем изучают препарат под иммерсией при увеличении 1000 раз.

На малом увеличении можно увидеть скопления и комплексы кроветворных и негемопоэтических клеток, которые рассматривают с помощью иммерсионной системы (рис. 16, 17).

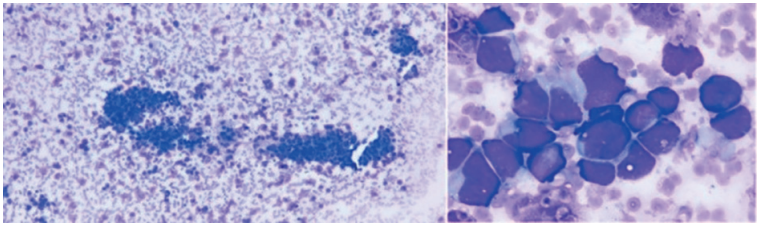


Рис. 16. Мазок костного мозга (окраска азур-эозин). Слева — малое увеличение, на фоне нормальной клеточности видны мономорфные комплексы. Справа — иммерсионное увеличение, комплекс морфологически негемопоэтических клеток

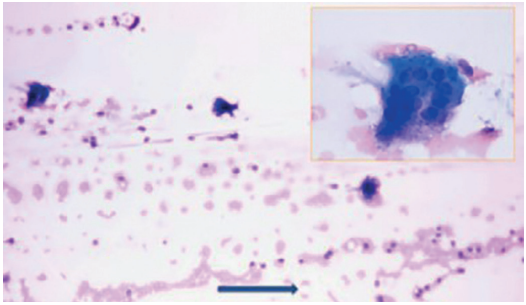


Рис. 17. Костный мозг (окраска азур-эозин). Острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ-В2). Мазок костного мозга. Крупные клетки в конце мазка — остеокласты. На врезке увеличенный остеокласт, находящийся слева вверху. Стрелка показывает направление движения спредера при изготовлении мазка

Для верификации диагноза в подобных случаях необходимы иммуноцитологические / иммуногистохимические и другие методы исследования.

Иногда мелкие кусочки ткани костного мозга содержат капилляры (рис. 18), строму с ее плазматическим пропитыванием и поврежденные жировые клетки (рис. 19).

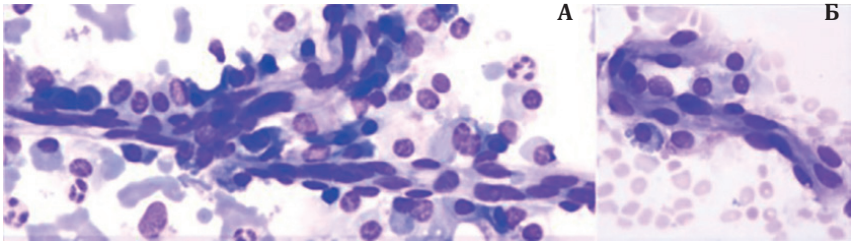


Рис. 18. Костный мозг (окраска азур-эозин, × 1000). А — острый миелобластный лейкоз (ОМЛ-М2). Эндотелий, миелобласты (стрелки)

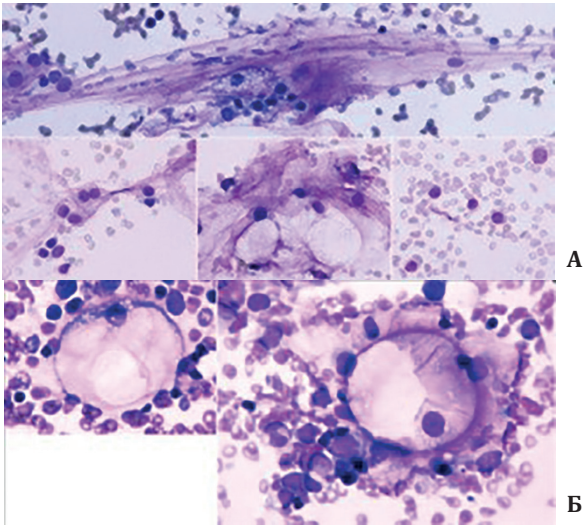


Рис. 19. Костный мозг (окраска азур-эозин, × 1000). А — строма костномозговых полостей, содержащая коллагеновые волокна, во время приготовления мазка может образовывать различные поля и нити розовато-фиолетового цвета; Б — костный мозг. Жировые клетки с поврежденной мембраной

К стромальным клеткам относят фибробласты, ретикулярные клетки, эндотелиальные клетки, жировые клетки, остеобласты и некоторые другие (рис. 20).

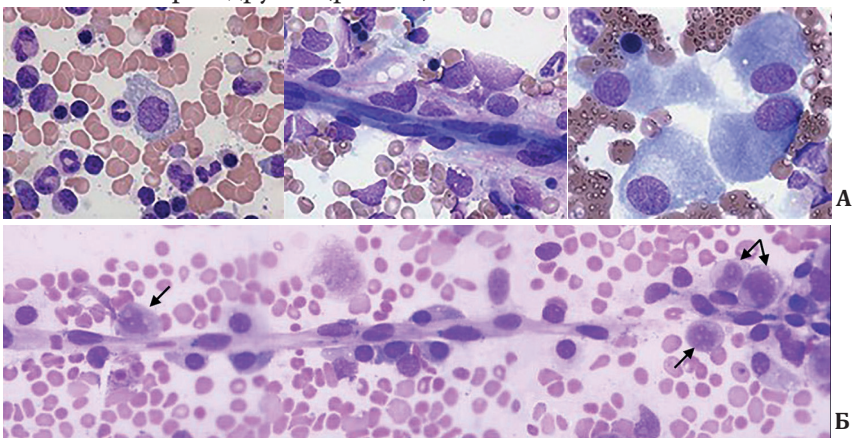


Рис. 20. Костный мозг (окраска азур-эозин, × 1000). Клетки стромы костного мозга. А — гистиоцит, эндотелий, остеобласты; Б — лимфома Ходжкина. Капилляры, большое количество плазмоцитов

Стромальные клетки не учитывают при подсчете миелограммы, но если эти клетки встречаются — можно этот факт отметить в примечании. Важно отметить наличие этих клеток при апластических / гипопластических состояниях.

Качественную оценку клеток производят при малом (см. выше) и большом увеличении (объектив 100×) бинокулярного микроскопа. Задачи:

– описание особенностей морфологии клеток;

– поиск редких клеток с заданной целью; например, мегакариоцитов (МКЦ), клеток Гоше, других макрофагов — с целью диагностики гемофагоцитарного синдрома (ГФС), тучных клеток при мастоцитозе, метастазов эпителиальных опухолей и др.,

– решение вопроса о необходимости цитохимического и других видов исследования.

Далее переходят к количественной оценке клеточного состава и подсчету миелограммы.

Миелограмма — процентное соотношение всех кроветворных клеток костного мозга (миелокариоцитов). Для подсчета процентного соотношения клеток костного мозга (миелограммы) мазки должны быть достаточно тонкие с ровным концом.

Клетки подсчитывают в тонкой части мазка, начиная с конца, перемещая его горизонтально на расстоянии примерно 1/3 от края, вначале с одной, затем с другой стороны. Используют 2–3 мазка, подсчитывая не менее 500 клеток. Иногда, к сожалению, при очень низкой клеточности, этого сделать не удается. Приходится ограничиваться подсчетом 200–300 клеток. Результат выражают в процентах, заносят в специальный бланк.

После дифференцированного подсчета оцениваются морфологические особенности клеток, кинетика созревания и составляется заключение по миелограмме в целом, при обязательном сопоставлении полученных данных с показателями гемограммы. В заключении описываются все особенности мазка и клеток.

В описании препарата указывают клеточность пунктата, оценивают клеточный состав (мономорфный или полиморфный), тип кроветворения (нормобластический, мегалобластический, смешанный), значение грануло-эритрокариоцитарного индекса, индексов созревания нейтрофилов и эритробластов, характеристику отдельных кроветворных ростков с описанием морфологических особенностей клеток, наличие конституциональных и других аномалий, количество митозов на 1000 клеток (при не-

обходимости). При необходимости отмечают установленные качественные и количественные особенности отдельных ростков кроветворения, морфологические особенности патологически измененных клеток (размер, форма клеток и ядер, соотношение ядра и цитоплазмы, характер хроматина, наличие нуклеол, цвет и зернистость цитоплазмы и т. п.).

При высокой степени разведения пунктата периферической кровью невозможно адекватно оценить костномозговое кроветворение пациента. Признаками значительного разведения костного мозга кровью считается совокупность следующих признаков:

– низкая клеточность пунктата;

– отсутствие мегакариоцитов при нормальном содержании тромбоцитов в крови;

– резкое увеличение соотношения грануло/эритро;

– снижение индекса созревания нейтрофилов;

– близость процентного содержания сегментоядерных нейтрофилов и лимфоцитов к их числу в крови пациента.

Таким образом, результатом цитологического исследования пунктата костного мозга является характеристика костномозгового кроветворения, которая включает в себя оценку клеточности костного мозга, процентного состава миелокариоцитов, костномозговых индексов; описание миелограммы и морфологических особенностей гемопоэза.

Результаты подсчета миелограммы и клеточности пунктата, расчета костномозговых индексов и сопоставления результатов с референтными показателями позволяют сделать выводы о соотношении ростков и кинетике созревания. По результатам формулируют заключение, которое носит описательный, предположительный или окончательный характер. Последнее возможно при обнаружении в пунктате костного мозга характерной цитологической картины, однозначности полученных результатов и обязательном сопоставлении их с показателями гемограммы, а также при наличии необходимой клинической информации о пациенте. В диагностически трудных случаях прибегают к консультации специалиста.

Контроль качества цитологического исследования пунктата костного мозга не должен ограничиваться участием в различных системах внешней оценки качества. Не следует забывать о внутрилабораторной оценке правильности заключения, которая должна осуществляться в лаборатории систематически. Например, возможны такие варианты:

а) все пунктаты костного мозга одновременно исследуются двумя врачами, результаты сравниваются, обсуждаются возникшие расхождения оценки цитологической картины; такой подход уменьшает вероятность ошибок, связанных с субъективными факторами;

б) в гематологической лаборатории исследуются контрольные мазки (препараты) костного мозга; сравниваются результаты исследования контрольных мазков тестируемым сотрудником и контрольные результаты; при ошибочной интерпретации патологических изменений обсуждение цитоморфологической картины контрольного мазка проводится за микроскопом; в обсуждении участвуют отвечающий за качество исследований сотрудник и врач, проводивший исследование;

в) при необходимости (сложный диагностический случай) мазки из костномозгового пунктата консультируют у специалиста-морфолога профильного лечебно-профилактического учреждения; в обсуждении принимает участие заведующий лабораторией и все сотрудники лаборатории, осуществляющие исследование;

г) катамнестический контроль правильности проводят путем сопоставления заключения гематологической лаборатории с диагнозами, установленными пациентам при дальнейшем клиническом обследовании: при гистологическом исследовании костного мозга; при анализе историй болезни за несколько лет — для выявления расхождений окончательного клинического диагноза и цитологического заключения.

Заключения регистрируют на бумажных и электронных носителях, которые хранят в лаборатории. Бланки с результатами цитологического исследования вклеивают в историю болезни, при использовании информационно-вычислительных систем заключения вводят в «электронную» историю болезни.

Глава 2.
МОРФОЛОГИЯ ЭРИТРОИДНЫХ КЛЕТОК В НОРМЕ И ПАТОЛОГИИ

До настоящего времени существует несколько вариантов номенклатуры эритроидных клеток, что создает полисемию и некоторую путаницу. В частности, в некоторых гематологических центрах используют следующую терминологию: эритробласт, пронормобласт, нормобласт базофильный, нормобласт полихроматофильный, нормобласт оксифильный, ретикулоцит, эритроцит. Морфологически распознаваемые клетки-эритробласты иногда называют эритрокариоцитами. ICSH рекомендует придерживаться следующей номенклатуры эритроидных клеток: проэритробласт, эритробласт базофильный, эритробласт полихроматофильный, эритробласт оксифильный, ретикулоцит, эритроцит [3, 11, 12].

В костном мозге расположение эритроидных клеток преимущественно очаговое, в мазках это выглядит как «островки», состоящие из эритробластов азной степени зрелости, формирующих «корону», которая окружает центральный макрофаг. Подобные структуры называют эритробластическими островками (рис. 21).

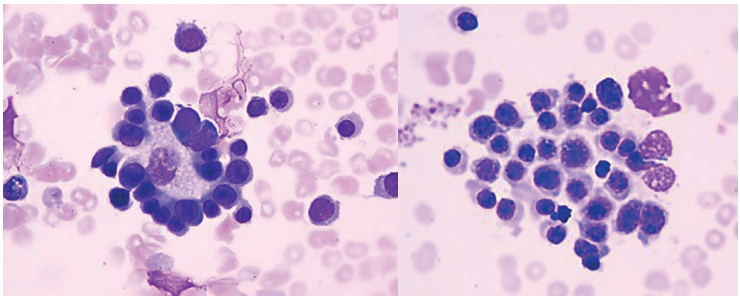


Рис. 21. Костный мозг (окраска по Романовскому, × 1000). Эритробластические островки. Слева — эритроидные клетки расположены вокруг центрального макрофага

Эритробластические островки, открытые более 60 лет назад, — специфическое микроокружение для эритропоэза. Центральный макрофаг островка играет ключевую роль в регуяции

эритропоэза, в том числе «стрессового», а его дисфункция может привести к определенным нарушениям эритроидного кроветворения [13, 14].

Терминальной стадией развития эритроидных клеток является эритроцит — безъядерный форменный элемент крови. Исследование эритроцитов в окрашенных мазках и с помощью гематологических анализаторов является одним из важнейших методов диагностики анемий и других заболеваний крови. В частности, при микроскопии оценивают размер, форму и окраску эритроцитов. Подробно морфологические особенности эритроцитов в норме и патологии описаны нами в статье [15]. В данной монографии представлены особенности морфологии эритроцитов в соответствии с рекомендациями ICSH по номенклатуре клеток крови [11].

Патология размера и окраски эритроцитов проявляется микро- и макроцитозом, анизоцитозом, гио- и гиперхромией и полихромазией (рис. 22–24).

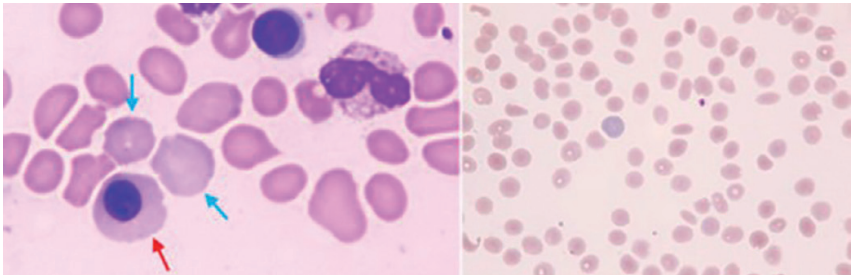


Рис. 22. Периферическая кровь (окраска по Романовскому, × 1000). Выраженный анизоцитоз, два полихроматофильных эритроцита (синие стрелки) и полихроматофильный эритрокариоцит большого размера (мегалобласт). На правом рисунке полихроматофильный макроцит.

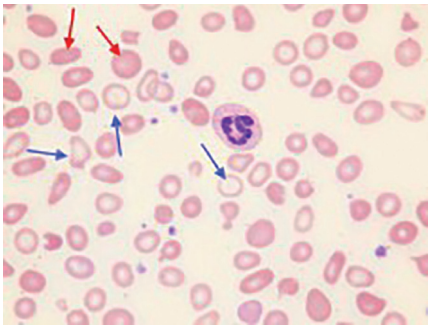


Рис. 23. Периферическая кровь (окраска по Романовскому, × 1000). Выраженные анизоцитоз и полихромазия. Гиперхромные эритроциты (красные стрелки) и гипохромные эритроциты разных размеров и формы (синие стрелки)

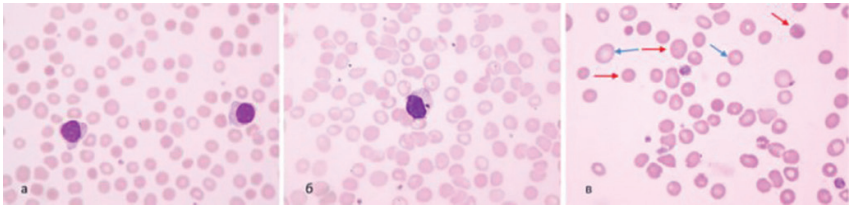


Рис. 24. Периферическая кровь (окраска по Романовскому, × 1000): а — анизоцитоз и полихромазия эритроцитов у пациента с хроническим лимфолейкозом (ХЛЛ); б — пойкилоцитоз, анизохромия (кровь матери ребенка с болезнью Чедиака-Хигаси); в — макроовалоцит и сфероциты (красные стрелки), нормохромные макроцит и сфероциты нормального размера (синие стрелки) при миелодиспластическом синдроме (МДС)

Размер эритроцитов в мазке ориентировочно определяется в сравнении с нормоцитом (диаметр 7 мкм). Более точное представление о размере клеток дает величина среднего объема эритроцитов — MCV (mean corpuscular volume). Он имеет дифференциально-диагностическое значение при анемиях: снижен при железодефицитных анемиях, увеличен при мегалобластическом кроветворении и может оставаться нормальным при гемолизе. Присутствие в крови патологических белков (агглютининов), нарушение осмолярности плазмы, высокий лейкоцитоз, тромбоцитоз, ретикулоцитоз, фрагментация эритроцитов при механическом гемолизе и другие причины могут привести к ошибочному измерению MCV, как и других гематологических параметров [16].

Современные гематологические анализаторы обладают функцией графического отображения распределения эритроцитов по объему в виде гистограммы. Ее ширина — RDW (red cell distribution width) — является показателем анизоцитоза и отражает гетерогенность эритроцитов по объему. Величина RDW повышается при разных анемиях, хотя при выраженном макро- или микроцитозе может оставаться практически нормальной, но со сдвигом вправо (при макроцитозе) или влево (микроцитоз). Определенный интерес представляет двухфазная («двугорбая») гистограмма, которая указывает на наличие двух популяций эритроцитов — нормальных и патологических. Такая ситуация обычно встречается в начале заболевания или при выздоровлении. Увеличение RDW у «кадровых» доноров крови является одним из ранних признаков железодефицита [17]. Увеличение RDW также отмечено в проспективных и ретроспективных ко-

гортных исследованиях у пациентов с инфарктом миокарда, некардиологического хирургического профиля при злокачественных опухолях [18–20].

Окраска эритроцитов — важный морфологический признак. Нормальный эритроцит имеет форму двояковогнутого диска (биконкав), поэтому в препарате он имеет центральное просветление, в то время как остальная часть окрашена в розовый цвет. При сохранении в эритроцитах органелл, содержащих РНК (митохондрий и полирибосом), к красному цвету добавляется различная доля синевы, что делает их красно-серыми или сине-серыми. Такие эритроциты получили название «полихроматофильные».

При некоторых анемиях эритроциты окрашиваются по-разному, такое явление получило название «полихромазия». При этом эритроциты окрашиваются в обычный (разные оттенки красного) цвет, но интенсивность его зависит от концентрации гемоглобина, более интенсивно окрашенные эритроциты — гиперхромные, недостаточно окрашенные — гипохромные. Окраска эритроцита отражает степень его гемоглобинизации. При ее изменении интенсивность окрашивания и зона просветления меняются, что позволяет выявить гипохромию или гиперхромию (рис. 25, 26).

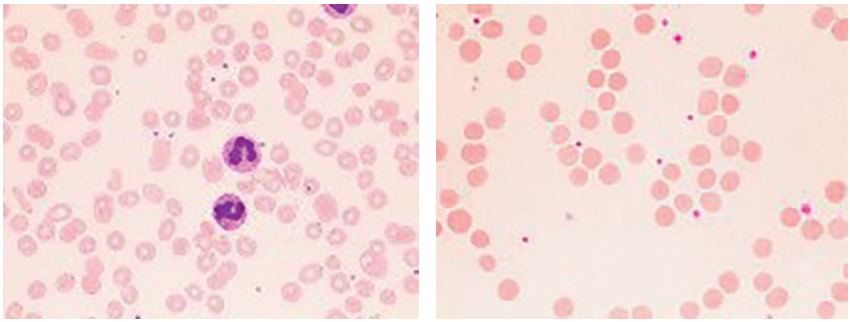


Рис. 25. Периферическая кровь (окраска по Романовскому, × 1000). Слева — гипохромия эритроцитов, справа — гиперхромия

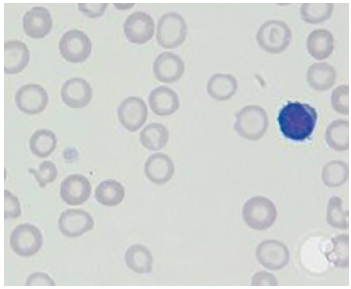


Рис. 26. Мазок периферической крови (окраска по Райту, × 1000). Гипохромия эритроцитов у пациента с железодефицитной анемией (ЖДА) (фото G.Venkataraman, опубликовано 20.04.2017, сайт www.hematology.org)

Более объективное представление о степени гемоглобинизации эритроцитов дает показатель MCH (mean corpuscular hemoglobin) — среднее содержание гемоглобина в эритроците. Некоторые гематологические анализаторы позволяют дополнительно оценить степень гипохромии. На это указывают такие параметры, как процент гипохромных эритроцитов (Hypo, HypoHe, HPO, LHD,%), концентрация гемоглобина в ретикулоцитах (CHr, MCHr, RetHe, пкг) и некоторые другие.

Аномалии формы эритроцита

Пойкилоцитоз — термин, обозначающий наличие в крови эритроцитов, отличающихся от нормальных по форме. Наиболее часты и разнообразны аномалии эритроцитов при врожденных гемолитических анемиях (ГА) (рис. 27).

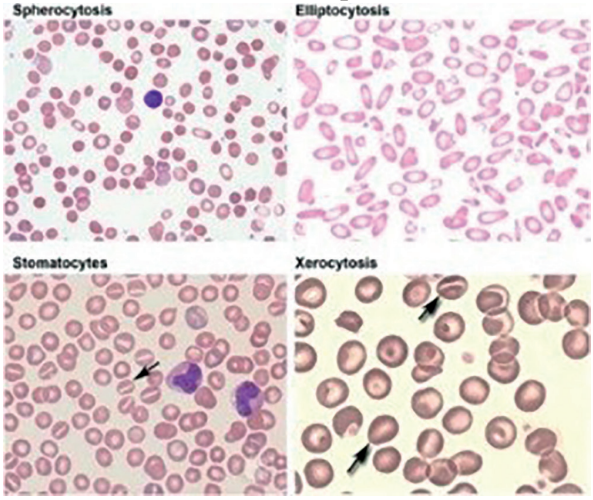


Рис. 27. Патологические формы эритроцитов при врожденных ГА: сфероциты, эллиптоциты, стоматоциты, ксероциты [21]

Сфероцитоз может встречаться при различных заболеваниях крови. В основе патогенеза заболевания лежит генетический дефект мембранного белка спектрина, что в итоге приводит к формированию эритроцитов не в виде двояковогнутово диска, а «шара» — микросфероцита (рис. 28). Сфероциты утратили двояковогнутость, стали шарообразными и не имеют центрального просветления. Индекс сферичности (соотношение диаметра и толлщины) снижен.

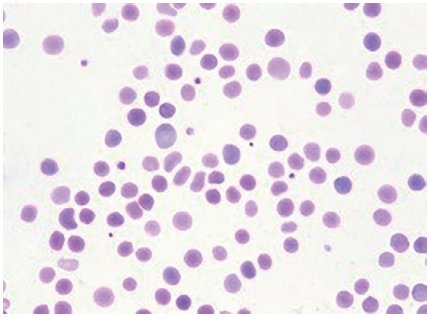


Рис. 28. Периферическая кровь (окраска азур-эозин, ув. × 1000). Семейная сфероцитарная анемия, сфероциты разного размера. Полихроматофилия

Важно отличать микросфероцит, объем которого существенно меньше объема нормоцита, от сфероцита, типичного для наследственной сфероцитарной анемии и некоторых аутоиммунных гемолитических анемиях (АИГА), когда средний диаметр эритроцита уменьшен, но объем его нормальный.

Овалоциты (эллиптоциты) в результате структурного дефекта мембраны имеют измененные диаметры: наибольший — до 12 мкм, наименьший — до 2 мкм (в норме оба диаметра — 7 мкм). Показатели MCV и MCH могут быть нормальными, что подчеркивает важность микроскопии мазка крови (рис. 29).

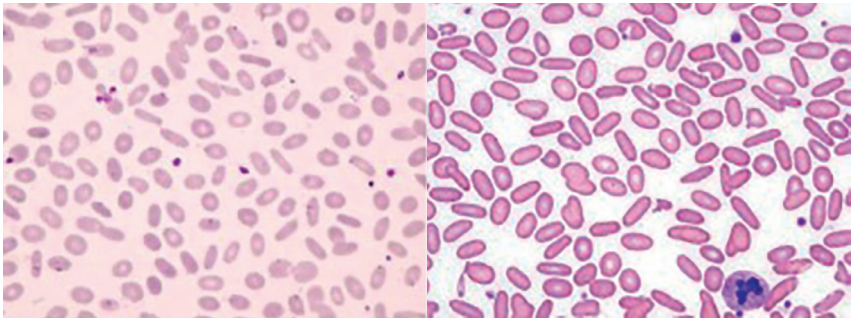


Рис. 29. Периферическая кровь (окраска азур-эозин, ув. × 1000). Овалоцитарная анемия (источник — сайт www.hematology.org)

Овалоцитоз — вариант врожденной ГА. Однако овалоциты описаны при различных заболеваниях крови, например, при миелодиспластическом синдроме у пожилого пациента [22]. Иногда овалоциты появляются в небольшом количестве при заболеваниях печени, при длительном пребывании человека в космосе и при других состояниях. Не исключено их появление в небольшом количестве в результате дефекта приготовления и окрашивания мазка [16].

Стоматоцитоз также относится к мембранопатиям. Стоматоциты характеризуются наличием неокрашенного участка в центре эритроцита в виде овальной полости, которая отдаленно напоминает форму рыбьего рта. Фактически их форма довольно разнообразна (рис. 30).

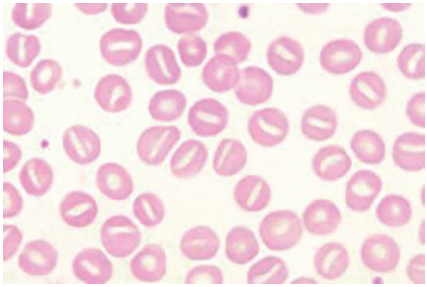


Рис. 30. Периферическая кровь (окраска азур-эозин, ув. × 1000. Стоматоциты

Стоматоциты могут встречаться при различных заболеваниях, например, при очень редкой аутосомно-рецессивной патологии всасывания растительных стеролов — ситостеролемии (фитостеролемии), сопровождающейся также макротромбоцитемией [23].

Ксероциты — уплотненные дегидратированные клетки нерегулярной формы. Характерны для наследственной болезни семейного ксероцитоза (рис. 27).

Пиропойкилоцитоз — редкий вариант гемолитической анемии, вариант эллиптоцитоза. Характерной особенностью заболевания является повышенная чувствительность эритроцитов к небольшому нагреванию (рис. 31).

Обычно у детей раннего возраста выявляются резко выраженная желтушность, значительное увеличение селезенки и увеличение печени. Содержание гемоглобина снижается до 50–55 г/л, количество ретикулоцитов повышается до 30%, в периферической крови обнаруживается некоторое количество эритробластов. В мазках крови выявляются микросфероциты, отмечаются выраженный анизоцитоз, пойкилоцитоз, фрагментация эритроцитов, значительно выраженная базофильная пунктация эритроцитов. Осмо-

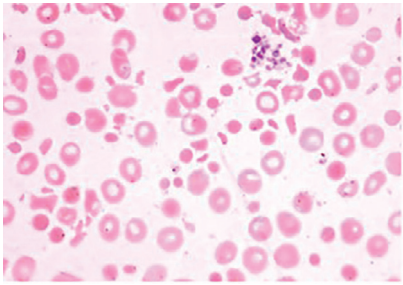


Рис. 31. Периферическая кровь (окраска азур-эозин, × 1000). Пиропойкилоцитоз. Мазок сделан из аспирата костного мозга грудины «теплым» шприцем сразу после сухой стерилизации в термостате без последующего достаточного охлаждения

тическая резистентность эритроцитов снижена. Подобная приобретенная деформация эритроцитов наступает при температуре 52–55°С, что может быть при нагревании крови, например, во время транспортировки или нахождении вблизи приборов отопления (тепловой артефакт). От эритроцитов отделяются бесформенные фрагменты, имеются и микросфероциты.

Описан клинический случай у ребенка трех лет с обширным ожогом (65% поверхности тела). В мазке крови — анизопойкилоцитоз со сфероцитами и эхиноцитами, встречаются микроциты (рис. 32).

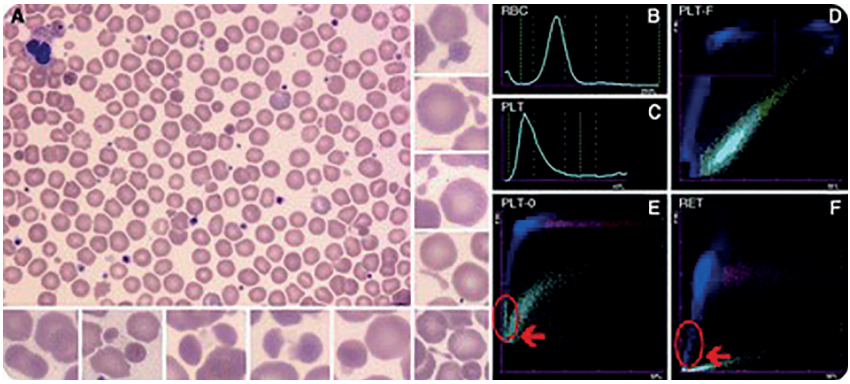


Рис. 32. Приобретенный «пиро»-пойкилоцитоз. А — мазок периферической крови. Окраска По Романовскому, × 400, × 1000. Б — скатерограммы [24]

При врожденных ГА, а также при различных патологических состояниях могут появляться эритроциты необычной формы, тогда это отражается в названии патологии или даже болезни, например, эхиноцитоз (рис. 33).

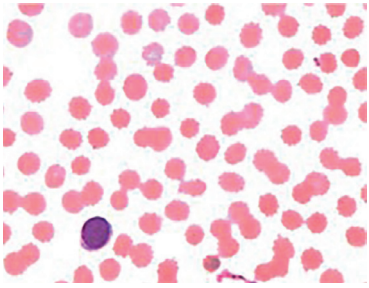


Рис. 33. Периферическая кровь (окраска азур-эозин, ув. × 1000). Эхиноцитоз при циррозе печени

Шистоциты (о греч. schistos — разделить, kytos — клетка) — это фрагменты эритроцитов, которые образуются при нарушениях микроциркуляции, например при тромботической микроангиопатии (болезнь Мошковица), и являются важным диагностическим признаком данного заболевания (при наличии шистоцитов > 1% от всех эритроцитов). Они встречаются при гемолитико-уремическом синдроме, параклапанных фистулах после имплантации клапанов сердца, при столкновении потоков эритроцитов с шероховатыми поверхностями при дефектах клапанов, сосудистых швах). Чтобы назвать фрагмент эритроцита шистоцитом, по предложению ICSH [25], необходимо наличие нескольких морфологических признаков: клетки шлемовидной формы, маленькие неправильные треугольные или серповидные клетки, заостренные (закругленные) углы, отсутствие центрального просветления. У шистоцита должна быть линия разлома, она может быть прямой, дугообразной или неправильной. Кроме того, у фрагмента должно быть не менее двух углов, которые могут быть закругленными (рис. 34). Отсутствие стандартизации в определении цистоцитов может привести к несоответствию или неправильному диагнозу, что повлияет на лечение и клинические результаты.

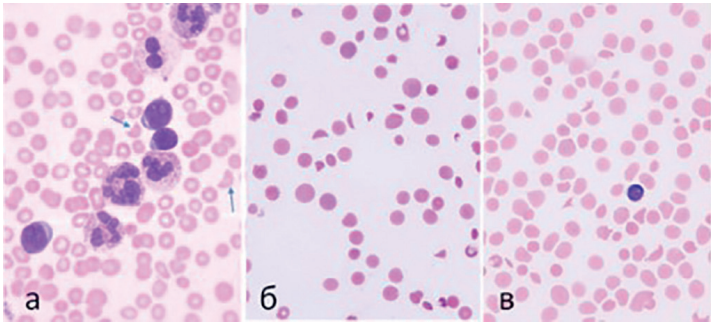


Рис. 34. Периферическая кровь (окраска по Романовскому, × 1000). Шистоциты в мазках крови: а — ОЛЛ BII с длительной большой эозинофилией, дилатационная кардиомиопатия; б — параклапанная фистула после имплантации аортального клапана; в — атипичный гемолитико-уремический синдром

Рабочей группой ICSH в качестве дополнительного критерия шистоцитоза рекомендовано использовать подсчет фрагментированных эритроцитов с помощью гематологических анализаторов (показатель Frg).

Ложный шизоцитоз может быть обусловлен изменением формы эритроцитов, имеющих особенности мембраны, при плотном их расположении между собой или рядом лежащим тромбоцитом (рис. 35). Кроме того, фрагменты эритроцитов могут появляться в мазках, приготовленных в момент ее свертывания.

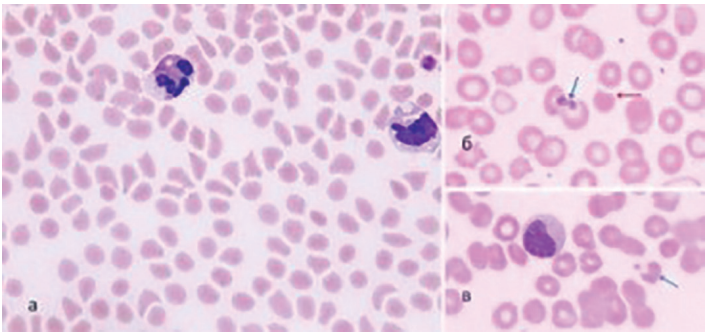


Рис. 35. Мазок периферической крови (окраска азур-эозин, × 1000). Ложный шистоцитоз: а, б — деформация эритроцитов от тесного примыкания друг к другу (красная стрелка); б, в — деформация эритроцитов тромбоцитами (синие стрелки)

Неравномерное распредление эритроцитов в мазке крови — это особая форма морфологических особенностей мазка периферической крови, которую выделяет ICSH [12]. К нему относится агглютинация эритроцитов. Чаще всего она встречается при АИГА. Это неоднородное заболевание, его варианты определяются оптимальной температурой взаимодействия аутоантител с эритроцитом, отсюда вытекает подраздлеение антиэритроцитарных аутоантител на холодовые и тепловые. Диагноз АИГА может быть поставлен с помощью поэтапного комплексного подхода, который направлен на выявление лабораторных и клинических признаков гемолиза, а затем определение иммунной природы гемолиза с помощью прямого теста на антиглобулин [26, 27, 28]. В мазках крови у пациентов видны агглютинаты эритроцитов и другие признаки, характерные для гемолитических анемий (рис. 10, 36, 37).

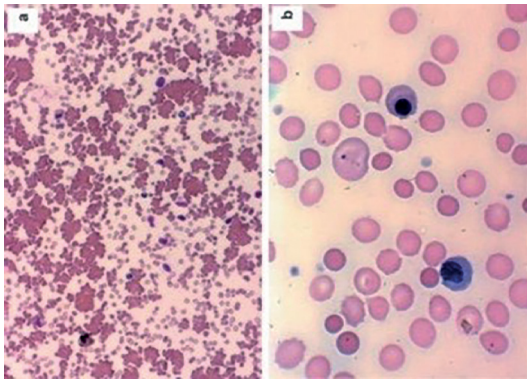


Рис. 36. Периферическая кровь. Окраска по Райту, × 1000. АИГА: a — с холодовыми антителами; b — с тепловыми антителами. Полихромазия, пойкилоцитоз, анизоцитоз, ядросодержащие эритроциты, тельца Жолли (источник — Atlas of Hematology, www.accessmedicine.com)

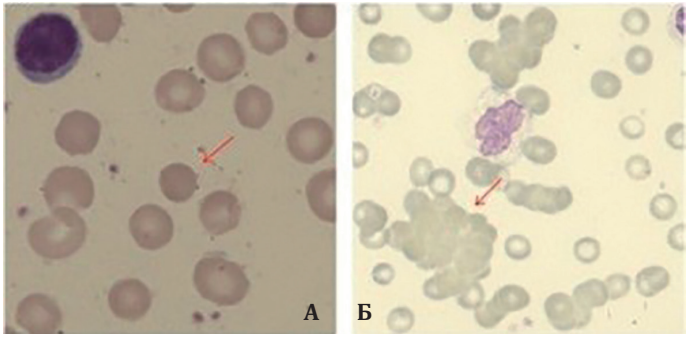


Рис. 37. Периферическая кровь пациентов с АИГА. Окраска Май-Грюнвальд-Гимза. А — сфероцит у пациента с АИГА с тепловыми антителами; × 100. Б — агглютинация эритроцитов у пациента с болезнью холодовых агглютининов (× 40) [27]

Внутриэритроцитарные включения: базофильная зернистость, тельца Жолли и кольца Кебота, кровепаразиты.

Базофильная зернистость эритроцитов видна в виде многочисленных мелких базофильных включений, разбросанных по эритроциту. Они не содержат железа. Отличаются от телец Pappenheimer'а большим количеством и расположением по всей цитоплазме, а не только на периферии. Базофильная зернистость встречается при различной патологии. Она характерна для отравления свинцом, для дефицита пиримидин 5'-нуклеозидазы, встречается при талассемии, тяжелой мегалобластной анемии,

миелодиспластическом синдроме, наследственной дизэритропоэтической анемии. Включения состоят из рибосом. Для отличия от телец Pappenheimer'а (митохондрий, содержащих железо), которые располагаются на небольшом участке эритроцита, можно сделать окраску на берлинскую лазурь.

Нередко при анемиях базофильная зернистость сочетается с другими различными особенностями эритроцитов — анизоцитоз, пойкилоцитоз и полихромазия (рис. 38).

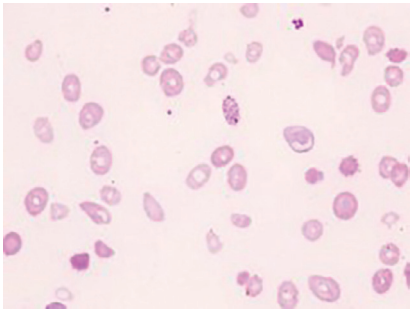


Рис. 38. Мазок периферической крови Базофильная пунктация в эритроците при выраженном анизоцитозе, пойкилоцитозе и анизохромии

Кольца Кэбота впервые описаны в 1903 году американским врачом Ричардом Кэботом. Это тонкие красно-фиолетовые нитевидные образования в форме кольца или восьмерки, которые встречаются в эритроцитах (рис. 39). Возможно, они формируются из микротрубочек, которые являются остатками митотического веретена. Их присутствие указывает на ненормальность в процессе деления эритрокариоцитов.

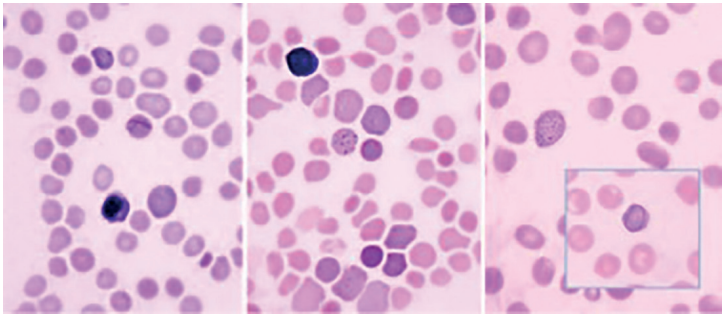


Рис. 39. Кольца Кэбота и базофильная пунктация эритроцитов. ОЛЛ, ремиссия, дефицит фолиевой кислоты

Структуры, которые могут быть предшественниками колец Кэбота, были найдены в созревающих мегалобластах, что может быть связано с нарушениями в обмене этих веществ, характерными, как известно, для пернициозной анемии. Однако они мо-

гут встречаться при дефиците фолатов, в частности, вследствие химиотерапии острых лейкозов метотрексатом, при отравлении свинцом и при первичном МДС.

Тельца Жолли являются фрагментом ядра эритрокариоцита, не включенного в ядро дочерней клетки, образовавшейся во время патологического митоза, или фрагментом ядра при его почковании (рис. 40). Тельца Жолли могут обнаруживаться в зрелых эритроцитах и полихроматофильных эритробластах.

Кровепаразиты — малярийный плазмодий, бабезии и другие также могут встречаться в эритроцитах (рис. 41, 42).

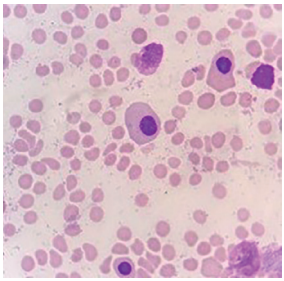


Рис. 40. Периферическая кровь (окраска по Романовскому, × 1000). Тельца Жолли

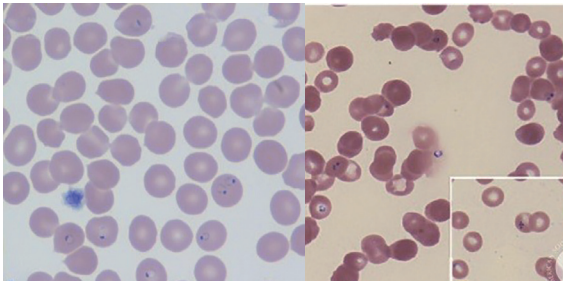


Рис. 41. Периферическая кровь (окраска по Гимза, × 1000). Слева — Plasmodium Falciparum, кольца (иногда — в виде «наушников) (www.hematology.org, автор G. Venkataraman, опубликовано 20.04.2017). Справа — Babesia microti, окраска по Райту, ув. × 1000 [29]

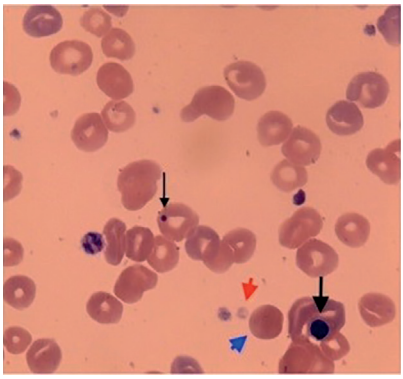


Рис. 42. Периферическая кровь (окраска по Гимзе). Тельце Жолли (тонкая стрелка), внеклеточное кольцо Babesia microti (красная стрелка), сфероциты (синяя стрелка) и эритроциты с ядрами (толстая стрелка) [30]

Картина костного мозга при анемиях

Мегалобластические анемии вызываются дефицитом витамина B12 и фолиевой кислоты. В обычных случаях лабораторная диагностика данной патологии не представляет проблем, в клиническом анализе крови, который является основным диагностическим инструментом, выявляются гиперхромия и макроцитоз эритроцитов, умеренная нейтропения и тромбоцитопения. К морфологическим особенностям клеток крови относят крупные гиперсегментированные нейтрофилы, внутриэритроцитарные включения — тельца Жолли и кольца Кебота, в костном мозге — магелобластическое кроветворение (рис. 43–45).

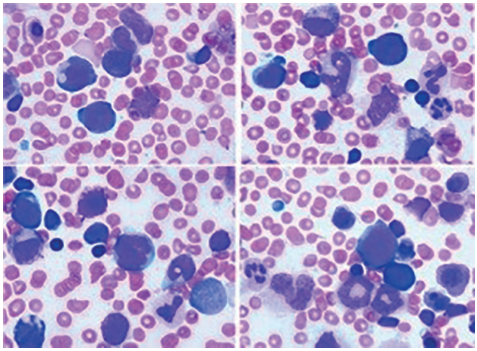


Рис. 43. Костный мозг. Окраска по Романовскому, × 1000. Витамин B12 — дефицитная анемия у новорожденного. Наряду с мегалобластами можно отметить гиперсегментацию ядер нейтрофилов, наличие гигантских палочкоядерных нейтрофилов. Мегалоцитов немного, т.к. ребенку переливали донорские эритроциты

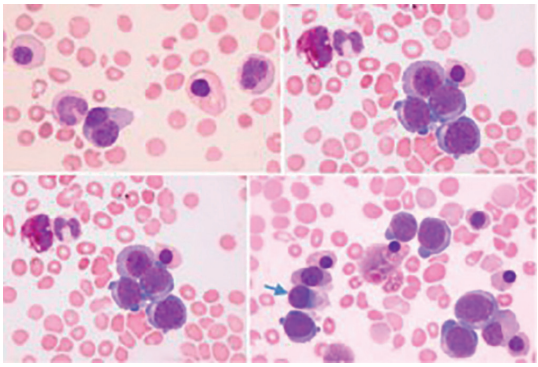


Рис. 44. Костный мозг (окраска по Романовскому, × 1000). Мегалобластная анемия

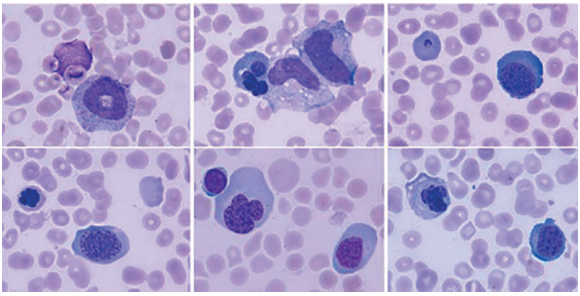


Рис. 45. Костный мозг (окраска по Романовскому, × 1000). Мегалобластная анемия, обусловленная дефицитом у пациента внутреннего фактора Кастла (гастромукопротеина)

Врожденные дирэритропоэтические анемии — группа редких наследственных нарушений, характеризующихся врожденной анемией, неэффективным эритропоэзом с выраженными морфологическими особенностями эритробластов костного мозга (рис. 46) и развитием вторичного гемохроматоза. У пациентов обычно наблюдается анемия, желтуха, спленомегалия и субоптимальная реакция ретикулоцитов в зависимости от степени анемии.

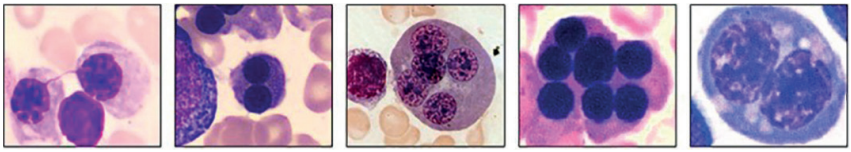
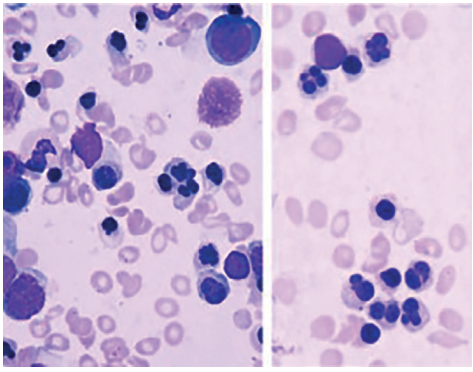


Рис. 46. Костный мозг (окраска азур-эозин, × 1000). Эритробласты костного мозга при различных вариантах врожденной дирэритропоэтической анемии [31]



В костном мозге отмечается эритроидная гиперплазия, нередко — с уродливыми эритробластами (рис. 47).

Рис. 47. Костный мозг (окраска азур-эозин, × 1000). Врожденная дизэритропоэтическая анемия. Нормальный эритробласт и множество полихроматофильных эритрокариоцитов с одно-, дву-, трех- и четырехдольными ядрами

В настоящее время в лабораторной диагностике заболевания и установления его варианта важное значение имеют молекулярно-генетические тесты.

Парциальная красноклеточная аплазия (ПККА) — клинико-лабораторный синдром, характеризующийся редукцией эритроидного ростка кроветворения, уменьшением или отсутствием эритроидных клеток костного мозга. ПККА может быть врожденной (анемия Даймонда-Блэкфана) и приобретенной. Первичная приобретенная ПККА — это аутоиммунное заболевание. Вторичная приобретенная ПККА может быть связана с заболеваниями соединительной ткани (системная красная волчанка); лимфопролиферативными заболеваниями (хронический лимфолейкоз), инфекциями (парвовирусом B19); солидными опухолями; с некоторыми другими заболеваниями, воздействием лекарств или токсических агентов [32]. Является причиной тяжелой нормоцитарной нормохромной анемией с ретикулоцитопенией (рис. 48) при нормальном количестве нейтрофилов и тромбоцитов.

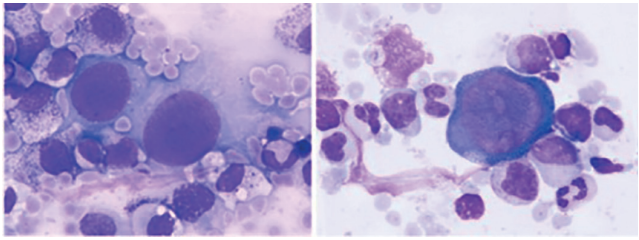


Рис. 48. Костный мозг (окраска азур-эозин, × 1000). ПККА непосредственно после криза. Гигантские эритробласты

Заключение

Исследование мазка периферической крови у пациента с анемией или другим нарушением эритропоэза позволяет получать и интерпретировать диагностически значимые результаты. Они включают оценку формы, размера, окраски, включений и расположения эритроцитов. Аномалии формы эритроцитов и другие их особенности часто несут ключевую информацию для дифференциальной диагностики. Как и все лабораторные тесты, морфологию эритроцитов следует интерпретировать в комплексе с другими данными и с осторожностью, особенно у младенцев и детей. При правильном использовании морфология эритроцитов может стать важнейшим диагностическим инструментом.

Глава 3.
МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ГРАНУЛОЦИТОВ В НОРМЕ И ПАТОЛОГИИ

Гранулоциты объединяют нейтрофилы, эозинофилы и базофилы. Морфология нормальных клеток миелопоэза приводится ниже в соответствии с рекомендациями по номенклатуре клеток крови ICSH [11].

Миелобласт имеет диаметр 12–20 мкм, крупное круглое или овальное ядро с нежным хроматином и одной или несколькими вакуолями. Цитоплазма базофильная, часто не имеет зернистости (или может содержать мелкую скудную зернистость) и не меет зоны (рис. 49).

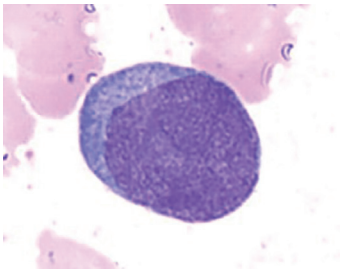


Рис. 49. Нормальный костный мозг (окраска по Романовскому, ×1000). Миелобласт

Промиелоцит имеет диаметр 15–25 мкм, овальное или округлое ядро с нежным / промежуточным хроматином, обычно видимую нуклеолу. Цитоплазма базофильная с обильными сине-фиолетовыми или красными гранулами. Характерной особенностью клеток является зона Гольджи — светлое пятно в цитоплазме, где практически нет гранул. Обычно она расположена рядом с небольшим вдавлением ядра.

Миелоцит мельче промиелоцита (10–18 мкм) с круглым или овальным ядром, которое иногда расположено эксцентрично. Хроматин средней степени конденсации. Базофильная цитоплазма содержит красно-фиолетовую зернистость.

Начиная с миелоцита, гранулоциты подразделяют на нейтрофилы, эозинофилы и базофилы в зависимости от характера зернистости в цитоплазме.

Метамиелоциты имеют размер меньше, чем миелоцит, содержат почковидное или бобовидное ядро с характерной структурой хроматина — «тигровая шкура». В цитоплазме содержится зернистость (нейтрофильная, базофильная или эозинофильная).

Палочкоядерные нейтрофилы 10–14 мкм в диаметре, имеют вытянутое, изогнутое ядро (S- или С-образное). Раньше считалось, что к ним надо относить клетки, у которых ядро имеет одинаковую толщину на всем протяжении или толщина намечающейся перемычки ядра составляет меньше 1/3 толщины остальной его части.

Сегментоядерные нейтрофилы обычно имеют такой же размер, как и палочкоядерные. В ядре 3–4 сегмента.

В настоящее время в связи с использованием автоматических аналитических систем в гематологии анализаторы крови определяют суммарное количество зрелых нейтрофилов, не выделяя фракцию палочкоядерных. Учитывая высокую диагностическую ценность уровня данных клеток в клинической практике, в некоторых моделях гематологических анализаторов имеется функция определения незрелых гранулоцитов (IG) и при увеличении количества палочкоядерных нейтрофилов дается пометка IG bands.

Эозинофилы также относят к клеткам гранулоцитарного ростка кроветворения. Они, как и нейтрофилы, проходят стадии дифференцировки: промиелоцит, миелоцит, метамиелоцит, палочкоядерный и сегментоядерный. Наиболее молодой морфологически распознаваемой клеткой является эозинофильный промиелоцит, но иногда при ОМЛ можно увидеть клетку с характеристикой миелобласта и небольшим количеством эозинофильных гранул.

Зрелые эозинофилы, как правило, имеют 2-сегментные ядра. Иногда у них наблюдаются признаки дисплазии, что выражается в нарушении сегментации ядра, гипогранулярности, неравномерном распределении гранул в цитоплазме с образованием агранулярных участков, вакулизации, уменьшении размеров гранул (рис. 50). Все это не имеет конкретного диагностического значения.

Базофилы имеют размер 10–16 мкм в диаметре, базофильную цитоплазму и насыщенно синие гранулы. У базофилов не удается увидеть палочковидных ядер, т.к. их сегментация начинается очень рано. У созревающих базофилов гранулы частично перекрывают ядро, маскируя его форму, и обычно между базофильным миелоцитом и сегментоядерным базофилом промежуточные формы четко не различаются. Гранулы в цитоплазме базофилов могут быть компактными (плотными) или прозрачными бесцветными с темным контуром (рис. 51, 52).

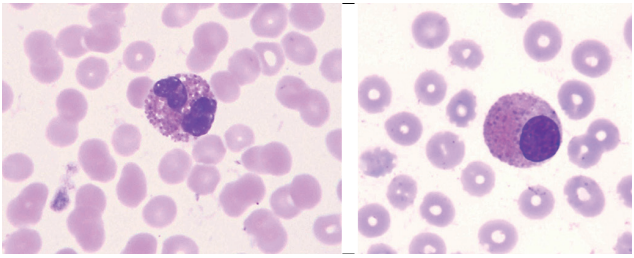


Рис. 50. Периферическая кровь (окраска по Романовскому, ×1000). Эозинофилы: а — вакуолизация; б — эозинофил с несегментированным ядром, но со зрелой структурой хроматина

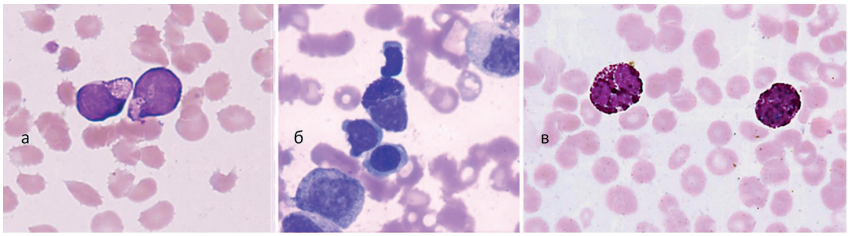


Рис. 51. Базофилы разной степени дифференцировки: а — базофильные бласты при остром лейкозе, в этих клетках почти все гранулы бесцветные; б — базофильный миелоцит (в центре); в — сегментоядерные базофилы

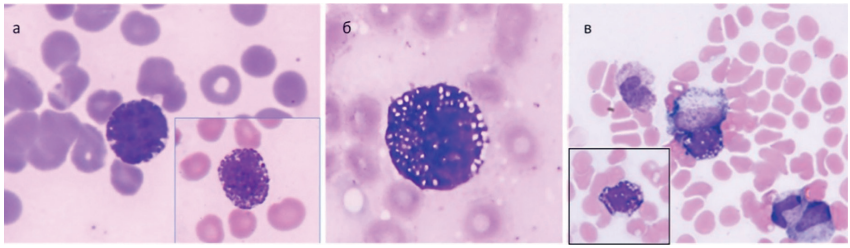


Рис. 52. Базофильные лейкоциты: а — большая часть гранул компактная, некоторые выглядят как пустоты; б — бесцветные прозрачные гранулы; в — базофильные миелоциты с преимущественно бесцветными прозрачными гранулами

Для улучшения визуализации базофилов иногда используют окраску толуидиновым синим (рис. 53).

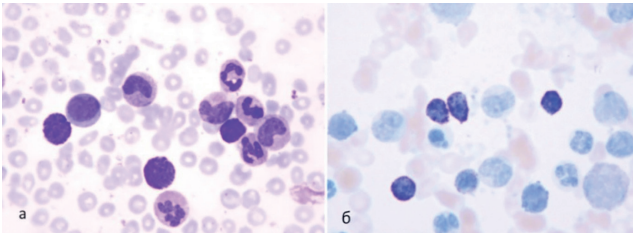


Рис. 53. Базофилы у больного хроническим миелолейкозом (ХМЛ): а — окраска по Романовскому-Гимзе; б — окраска толуидиновым синим, четыре базофила с метахромазией гранул

Патология гранулоцитов

Патологические изменения гранулоцитов могут быть количественными (лейкоцитоз, лейкопения) и качественными (токсическая зернистость, гиперсегментация и другие). По причине возникновения они подразделяются на реактивные и опухолевые.

Реактивные состояния гранулоцитопоэза. Система гранулоцитов является одной из наиболее реактивных систем организма, поэтому неудивительно, что лейкоцитарная формула часто изменяется при патологических процессах [3, 7, 16].

Нейтрофильный лейкоцитоз (нейтрофилез) — наиболее частый вид лейкоцитозов (увеличение абсолютного числа нейтрофилов более 7.0×10^9/л). Его причинами являются инфекции, стресс (послеоперационный), хроническое воспаление (ревматические болезни, вакулиты, гепатиты), воздействие некоторых лекарств (кортикостероиды, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор), беременность, курение, физическая нагрузка, врожденная идиопатическая нейтрофилия, синдром Дауна и другие.

Выделяются нейтрофильные сдвиги — изменение соотношения молодых и сегментоядерных нейтрофилов в лейкоцитарной формуле. Чаще в практике встречается так называемый сдвиг влево — увеличение в лейкоцитарной формуле количества палочкоядерных нейтрофилов и (или) появление еще более незрелых нейтрофилов (метамиелоцитов, миелоцитов, промиелоцитов). Это наблюдается при тяжелых инфекциях, метастазах рака в костный мозг, при лечении глюкокортикостероидами и цитокинами. При бактериальной инфекции сдвиг влево сочетается с появлением токсической зернистости. Реактивные изменения клеток могут встречаться и при лейкозах.

Количественное увеличение нейтрофилов при воспалительных процессах сопровождается и некоторыми морфологическими изменениями, в частности, токсической зернистостью нейтрофилов (рис. 54), тельцами Деле (рис. 55), дегенеративно-дистрофичесикми признаками (рис. 56).

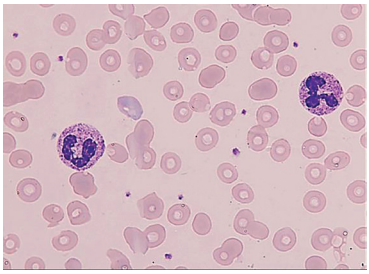


Рис. 54. Мазок периферической крови (окраска по Романовсому, ×100). Токсическая зернистость нейтрофилов у пациента с тяжелой пневмонией

Токсическая зернистость нейтрофилов — гранулы клеток грубые, сходные с азурофильными. Она нередко появляется раньше ядерного сдвига влево. Ее нарастание при гнойно-септических заболеваниях, крупозной пневмонии, скарлатине и ряде других воспалительных заболеваний указывает на прогрессирование патологического процесса и возможность неблагоприятного исхода. Токсическая зернистость появляется при различных повреждениях тканей, выражена при распаде опухолевой ткани под влиянием лучевой терапии при нормальной беременности и терапии цитокинами. Важное значение этот признак имеет в диагностике острого живота (например, гангренозного аппендицита, протекающего с незначительно повышенной температурой тела и нередко при отсутствии лейкоцитоза).

Тельца Деле представляют собой небольшие слабо базофильные включения, состоящие из уплотненной эндоплазматической сети. Они небольшого размера и обычно находятся на периферии клетки, изредка наблюдаются у здоровых людей. Их количество возрастает во время беременности, параллельно с лейкоцитозом. В противном случае они указывают на патологический процесс: инфекции, воспаление, ожоги и другие повреждения тканей. Характерно наличие телец Деле при аномалии Мея-Хегглина и при хроническом нейтрофильном лейкозе (ХНЛ).

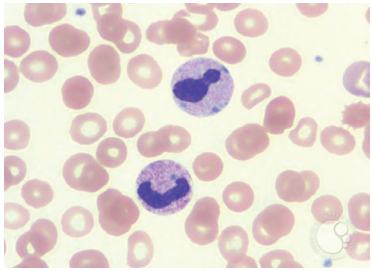


Рис. 55. Периферическая кровь. Окраска по Романовскому, ×1000 (источник: сайт hematology.org)

При хронических воспалительных процессах в нейтрофилах появляются дегенеративно-дистрофические признаки (рис. 56).

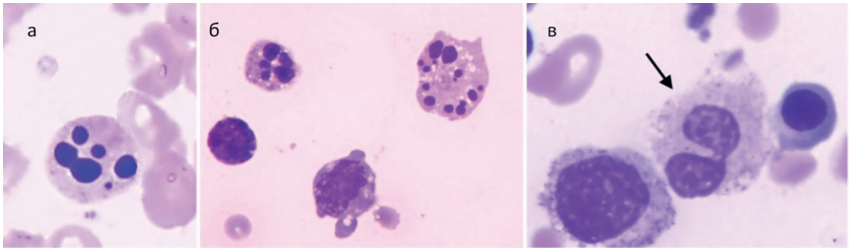


Рис. 56. Дегенеративно-дистрофические изменения нейтрофилов: а — мазок крови, апоптоз нейтрофила; б — апоптоз нейтрофилов в плевральной жидкости; в — некробиоз пельгероидного нейтрофила (стрелка)

Кольцевые ядра нейтрофилов очень редко встречаются у здоровых людей, чаще — при злоупотреблении алкоголем, при остром миелобластном лейкозе (ОМЛ), ХНЛ, мегалобластной анемии, МДС (рис. 57).

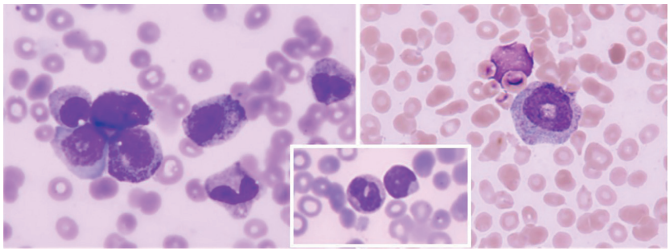


Рис. 57. Костный мозг (окраска по Романовскому, ×1000). Кольцевые ядра нейтрофилов. МДС

Кистевидные или пучковые ядра нейтрофилов (рис. 58) описаны при гипертермии свыше 41°С, причиной которой могут быть тепловой удар, геморрагический шок, энцефалопатический синдром, аутоиммунный энцефалит, злокачественная гипертермия анестезии, а также передозировка метамфетамина или кокаина. Перегрев крови возможен при транспортировке образцов для лабораторного исследования.

Макроцитоз нейтрофилов и гиперсегментация нейтрофилов встречаются при лейкозах и МДС и будут рассмотрены ниже.

Эозинофилия. Количество эозинофилов в крови у здорового человека составляет обычно 1–5% (абсолютное — 120–400/мкл).

Заметное увеличение (эозинофилия, более 700/мкл) встречается при различных патологических процессах: аллергия, паразитарные болезни, бронхиальная астма, опухоли, включая некоторые гемобластозы, отдельные ревматические и кожные заболевания (рис. 59, 60).

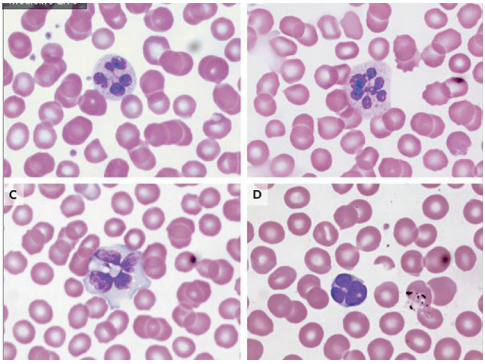


Рис. 58. Кистевидные ядра при гипертермии: a, b — у нейтрофилов; c — у моноцита; d — у лимфоцита (источник: N Engl J Med, April 25, 2013, Vol. 368, № 17)

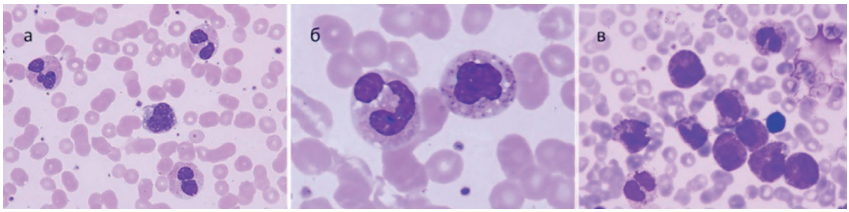


Рис. 59. Эозинофилия при остром описторхозе: а — вакуолизация, клетки с необычно мелкими гранулами; б — гранулы различного размера и плотности с неравномерным их расположением; в — мазок костного мозга

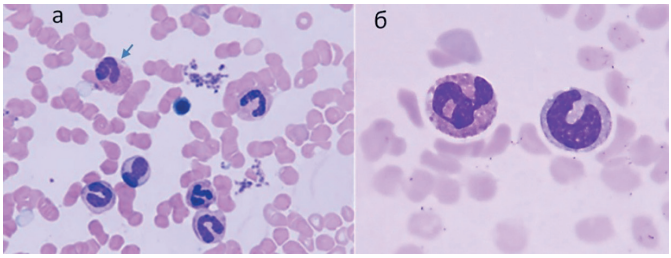


Рис. 60. Эозинофилия и дисплазия эозинофилов у пациента при неспецифическом аорто-артериите

В комплексе с другими признаками эозинофилия имеет диагностическое значение при эозинофильной гранулеме (вариант гистиоцитоза из клеток Лангерганса (рис. 61).

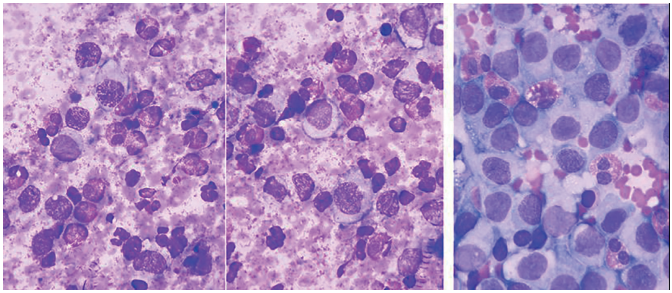


Рис. 61. Слева — мазок-отпечаток со среза биопсированного лимфоузла больного с гистиоцитозом из клеток Лангерганса: несколько гистиоцитов и много эозинофилов, между клетками рассыпаны эозинофильные гранулы из разрушенных клеток. Справа — лангергансоклеточный гистиоцитоз; отпечаток с тонкоигольного биоптата узла щитовидной железы

Базофильный лейкоцитоз — увеличение числа базофилов встречается редко при аллергических и хронических воспалительных процессах.

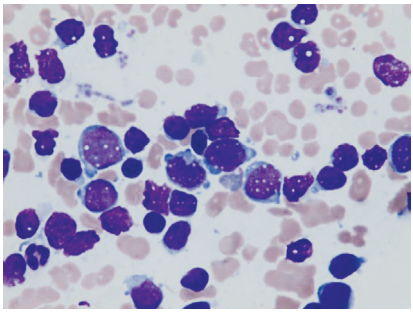


Рис. 62. Костный мозг (окраска по Романовскому, ×1000). В препарате костного мозга острый лейкоз со смешанным фенотипом B/M (B-линейный / миелоидный) с t(9;22)(q34;q11), t(2;14)(p12;q32)

Острые лейкозы. Несмотря на развитие иммунологических и молекулярно-генетических методов, лежащих в основе диагностики острых лейкозов, морфологическая характеристика бластов — морфологического субстрата опухоли — остается важной задачей врача КДЛ. Бласты могут иметь признаки атипии и дисплазии при лейкозах (рис. 62–64), а диагностика острых лейкозов может вызывать определенные затруднения.

В препарат — высокая клеточность, бластов — 84,8%. Бласты средних размеров, ядро округлое, хроматин нежный, количество нуклеол от одной до нескольких, высокое ядерно-цитоплазматическое отношение, цитоплазма базофильна, равномерно окружает ядро, не содер-

жит зернистости, также часть бластных клеток была вакуолизирована. При цитохимическом исследовании гликоген был положителен в 83% клеток, липиды — в 5% клеток. Данный случай предоставлен Т.С. Константиновой и Е.А. Партыловой.

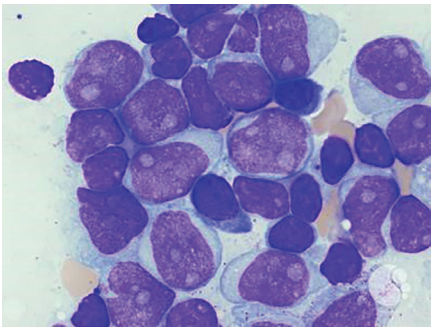


Рис. 63. Костный мозг (окраска по Романовскому, ×1000). Острый миелобластный лейкоз (М1). Бласты оставляют 75%, имеются признаки дисплазии (источник: сайт hematologe.org)

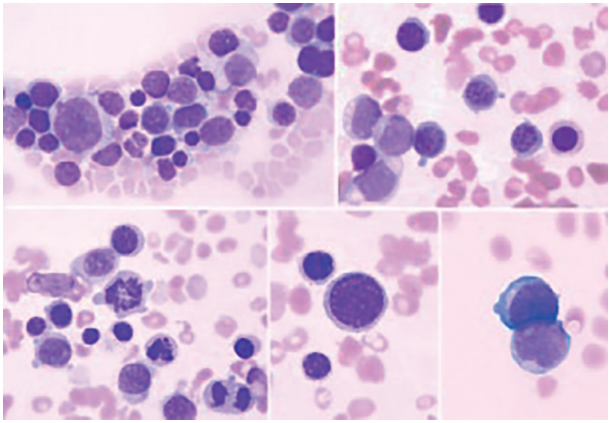


Рис. 64. Костный мозг (окраска по Романовскому, ×1000). ОМЛ (М6). В миелограмме этого пациента миелобласты составляют 22% от неэритроидных клеток. Высокая митотическая активность

Поскольку опухолевые бласты при лейкозах являются атипичными клетками, то иногда их дифференцировка, а следовательно и диагностика становятся затруднительными.

Приводим редкий вариант ОМЛ. Пациент мужчина, 85 лет. В анализе крови лейкоциты — 3 × 10^9/л, гемоглобин — 90 г/л, тромбоциты — 49 × 10^9/л, бласты — 8%. В костном мозге — атипичные промиелоциты 77% (рис. 65).

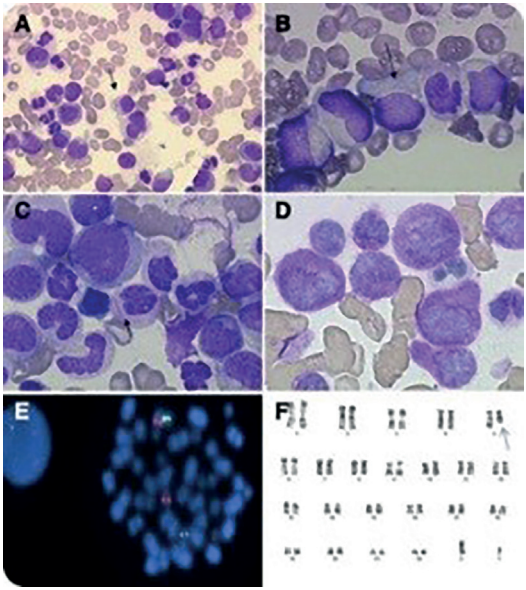


Рис. 65. Костный мозг. Аномальные промиелоциты (A–C). Цитоплазма бластов содержит азурофильные гранулы и пучки палочек Ауэра. Ядра правильные, неправильные или двулопастные, типичные для острого промиелоцитарного лейкоза. Положительная реакция на миелопероксидазу (D). Флуоресцентная in situ гибридизация не позволила выявить характерную для острого промиелоцитарного лейкоза перестройку гена RARA (E). Кариотип: 46 xy, делеция 5q (F). Диагноз «ОМЛ, связанный с миелодисплазией» [34]

Ниже представлены два случая острого промиелоцитарного лейкоза из нашей практики, особенностью которых является агипогранулярность / гипогранулярность бластов (рис. 66, 67).

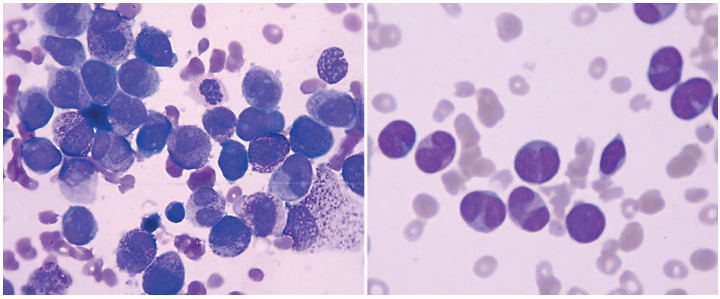


Рис. 66. Костный мозг (окраска по Романовскому, ×1000). Острый промиелоцитарный лейкоз (ОМЛ-М3, FAB). Слева — типичная цитологическая картина, справа — гипогранулярный вариант, характерны двудольные ядра

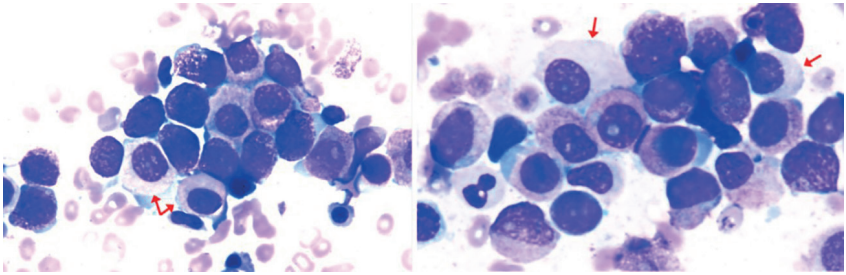


Рис. 67. Костный мозг (окраска по Романовскому, ×1000). ОМЛ-М3. Необычная морфология лейкозных клеток: гиперхромия ядер, наличие полностью агранулярных клеток (стрелки), наличие клеток с очень светлой мелкой зернистостью, иногда занимающей лишь часть цитоплазмы.

Морфология миелобластов крайне вариабельна в условиях патологии. Например, это может проявляться аномальной конденсацией хроматина (рис. 68).

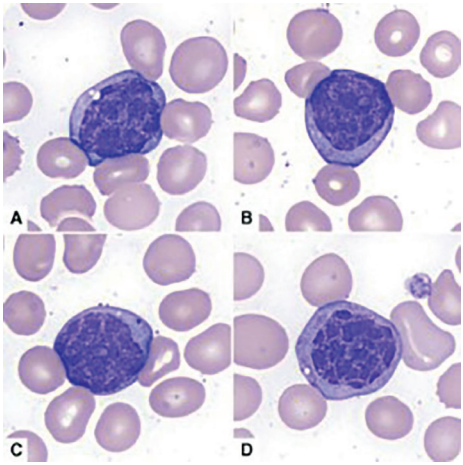


Рис. 68. Аномальная конденсация хроматина в миелобластах пожилого мужчины с миелодисплазией. Первоначально при микроскопии клетки A и B были расценены как промиелоциты, C — миелоцит, D — моноцит. Принадлежность данных клеток к миелобластам была доказана иммунофенотипически [35]

Ниже представлены некоторые особенности гранулоцитов при ОМЛ (рис. 69, 70).

Характерным признаком ОМЛ М4Эо является наличие в мазках костного мозга более 3% эозинофилов с крупными базофильными гранулами (рис. 71).

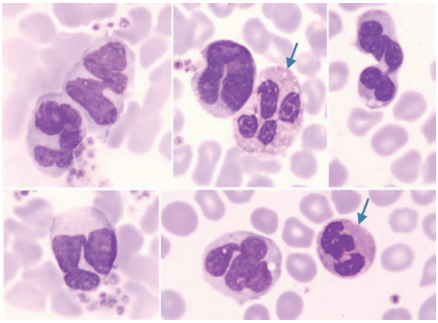


Рис. 69. ОМЛ М4: два нейтрофила (стрелки), остальные клетки — моноциты. Ядра клеток сегментируются, хотя многие из них имеют бластную структуру хроматина и нуклеолы

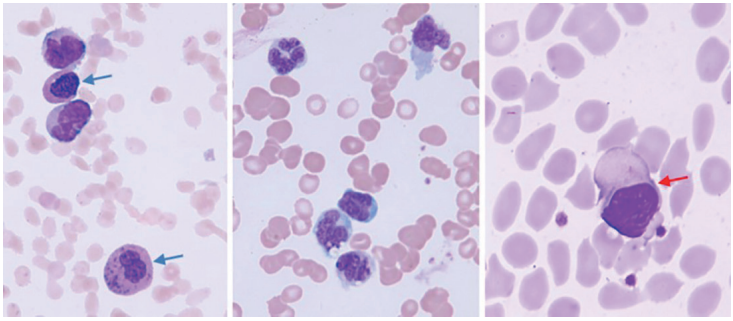


Рис. 70. ОМЛ М4Эо: монобласт (красная стрелка); эозинофилы (синие стрелки); остальные — клетки моноцитарного ростка различной морфологии

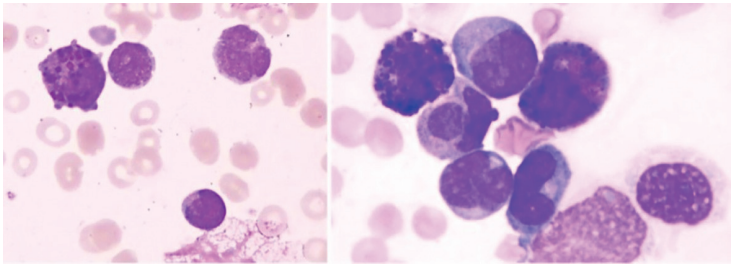


Рис. 71. ОМЛ М4Эо. Эозинофильные миелоциты содержат в цитоплазме гранулы синего и фиолетового цвета

Другими особенностями бластов являются форма ядра в виде чаши, гипо- или гипергранулярность и вакуолизация цитоплазмы (рис. 72, 73).

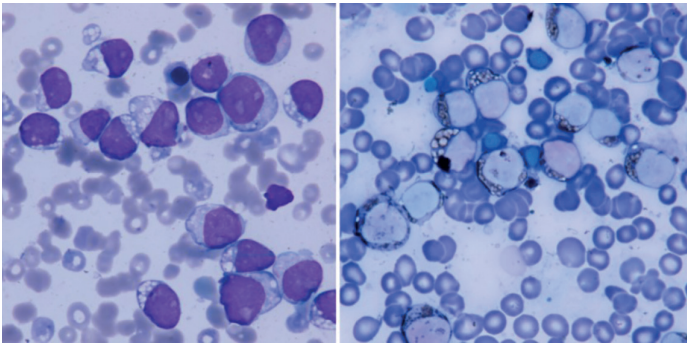


Рис. 72. Костный мозг. Ув. × 1000. ОМЛ-М2. Выраженная вакуолизация лейкозных клеток. Слева — окраска по Романовскому-Гимзе, справа — суданом черным В

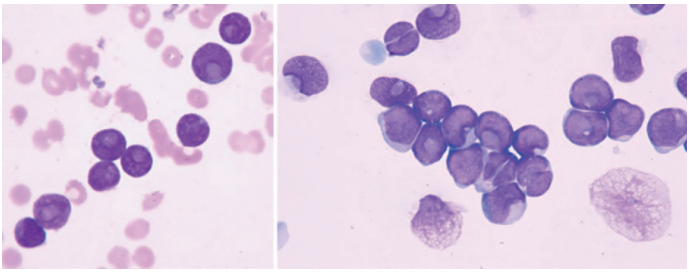


Рис. 73. Костный мозг. Окраска по Романовскому, ×1000. Миелобласты с ядром в виде чаши (cup-shaped nuclei). Кроме своеобразной формы ядра обращает внимание скудность цитоплазмы

Миелопролиферативные новообразования (МПН) — группа клональных гематологических миелоидных расстройств, сопровождающихся неопластической трансформацией полипотентной стволовой клетки с последующей пролиферацией миелоидных клеток, длительно сохраняющих способность к дифференцировке.

В соответствии с пересмотренной классификацией ВОЗ миелоидных новообразований и острых лейкозов 2016 г. [36], к МПН относятся:

– хронический миелолейкоз (ХМЛ), BCR-ABL1+;
– хроническая нейтрофильная лейкемия (ХНЛ);
– истинная полицитемия (ИП);
– первичный миелофиброз (ПМФ);
– эссенциальная тромбоцитемия;
– хронический эозинофильный лейкоз неуточненный;

– миелопролиферативные опухоли неклассифицируемые;
– мастоцитоз.

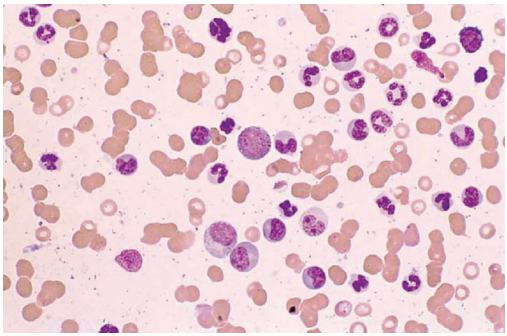


Рис. 74. Периферическая кровь пациента с ХМЛ. Окраска по Романовскому, ×1000

Эти заболевания хорошо описаны в литературе. Наиболее типичным и распространенным среди них является ХМЛ. В диагностике данного заболевания наряду со стандартными тестами важную роль играет исследование кариотипа опухолевых клеток — выявление Ph-хромосомы и молекулярно-генетическое исследование — выявление транскрипта bcr/abl. Однако исследование морфологии клеток крови и костного мозга, позволяющее выявить типичные лабораторные симптомы (рис. 74), не утрачивает своего значения.

Относительно редкими среди МПН являются ПМФ и мастоцитоз, представленные ниже.

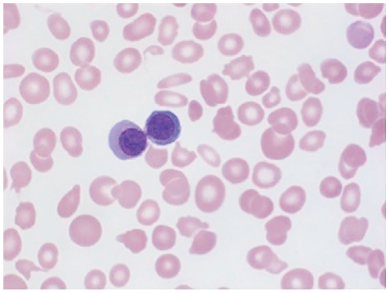


Рис. 75. Периферическая кровь пациента с ПМФ (окраска по Май-Грюнвальд-Гимзе, ×1000). Эритробласты с межядерными и межцитоплазматическими перемычками [37]

ПМФ — заболевание, характеризующееся ранним и значительным развитием фиброза костного мозга и появлением экстрамедуллярных очагов гемопоэза. Для него характерны пролиферация и атипия мегакариоцитов в сочетании с ретикулиновым и/или коллагеновым фиброзом, отсутствие признаков других МПН, наличие мутаций JAK2 или других клональных маркеров или, при их отсутствии. — доказательство первичности фиброза. Картина крови неспецифична, включает анзоцитоз, пойкилоцитоз, каплевидные эритроциты, эритробластоз крови, признаки дисмиелопоэза и другие лабораторные симптомы (рис. 75).

Приводим клинический пример пациента отделения онкогематологии Свердловской областной клинической больницы № 1 (зав. — к.м.н. Т.С. Константинова, врач Ю.С. Китаева).

Пациент Г., госпитализирован в состоянии средней тяжести. Генерализованная лимфоаденопатия, гепато- и спленомегалия. Диагноз при поступлении «лимфома неуточненная, высокоагрессивная, с лейкемизацией IVB стадии, с поражением шейных, подмышечных, внутригрудных, паховых лимфоузлов, печени, селезенки, костного мозга». В клиническом анализе крови WBC — 48.48 × 10^9/L, Hb — 125 г/л, PLT — 23 × 10^9/L, бласты — 15%, миелоциты — 15%, метамиелоциты — 2%, п/я нейтрофилы — 5%, с/я нейтрофилы — 30%, эозинофилы — 10%, базофилы — 2%, промоноциты — 2%, моноциты — 8%, лимфоциты — 11%.

Миелограмма: миелокариоциты — 164 × 10^9/л, бласты — 13,6%, эозинофилы — 16.2%, базофилы — 1.2%, все гранулоциты — 67.8%, все эритробласты — 8.2%, лимфоциты — 3.8%, моноциты — 6.6%, мегакариоциты — 0 (рис. 76).

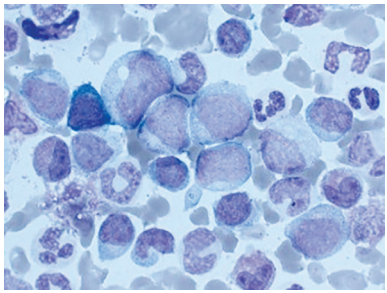


Рис. 76. Костный мозг. Окраска по Романовскому, ×1000

Препараты умеренно клеточные; неравномерное созревание ядра и цитоплазмы нейтрофилов, выражена гипогрануляция; встречаются гигантские нейтрофилы; скопления тучных клеток, единичные мегакариоциты.

В трепанобиоптате подвздошной кости фрагментированный столбик губчатой ткани; костные балки неравномерной толщины, коллагенового фиброза нет; клеточность повышена за счет гранулоцитарного ростка; эритроидный росток сужен; мегакариоциты 0-1-4 в поле зрения; лимфоидной инфильтрации не выявлено.

Заключение — «хроническое миелопролиферативное заболевание».

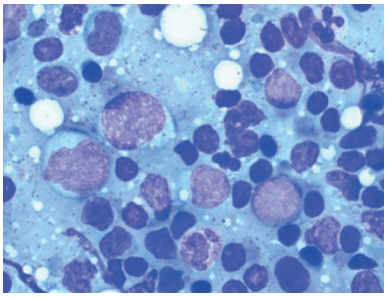


Рис. 77. Лимфатический узел. Окраска по Романовскому, ×1000

Была выполнена пункционная биопсия лимфатического узла (рис. 77).

В препарате много разрушенных клеток и голых ядер. На этом фоне встречаются крупные «молодые» клетки с полиморфными округлыми ядрами с нуклеолами, с голубой цитоплазмой, иногда — с небольшой вакуолизацией. Лимфоидные клетки разной степени зрелости (до 90%). Среди них бласты — 35%, пролимфоциты — 40%, лимфоциты — 25%.

Результаты иммунофенотипирования клеток костного мозга: в исследуемом образце — 8% бластных клеток с фенотипом — CD11c+CD45+CD33+CD64+CD13+CD34+CD117+, HLA-DR+Lysozyme -/+.

Заключение. Данных за ЛПЗ не получено, исключить МПЗ.

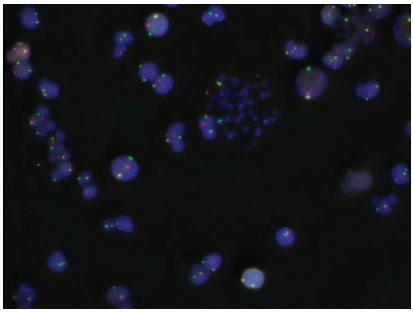


Рис. 78. Перестройка видна на метафазной пластике и во всех интефазных ядрах по разделению одной пары зеленого и красного флуоресцентных сигналов

Цитогенетика: 47,XY,t(8;13)(p11.2;q12),+21. В опухолевых клетках костного мозга — транслокация 8-13 с вовлечением хромосомного района 8p11, а также трисомия по 21-й паре хромосом. Методом флуоресцентной гибридизации in situ с использованием зонда на точку разрыва выявлена перестройка гена FGFR1, расположенного на коротком плече 8-й хромосомы в хромосомном районе 8p11 (рис. 78).

Применение панели реагентов Ampliseq childhood cancer panel для секвенирования нового поколения подтвердило наличие химерного гена ZMYM2-FGFR1 и показало типичные точки слияния: экзон 17 в гене ZMYM2 соединился с экзоном 10 гена FGFR1 (исследование выполнено д.м.н. Г.А. Цаур).

Таким образом, комплексом лабораторных методов было подтверждено наличие миелопролиферативного синдрома с перестройкой 8p11. На основании клинических и лабораторных данных был сформулирован диагноз «хроническое миелопролиферативное заболевание с FGFR1 реаранжировкой, с эозинофилией, моноцитозом, лимфаденопатией, гепато-спленомегалией». Это редкое агрессивное заболевание с неблагоприятным прогнозом. Заболевание ассоциировано с эозинофилией, лимфоаденопатией. Мишени таргетной терапии уточняются [33]. Пациенту

была выполнена аллогенная HLA-гаплоидентичная трансплантация СКК.

Данный случай демонстрирует сложности диагностики гемобластозов, которые преодолеваются благодаря ИФТ и молекулярно-генетическим методам исследования.

Редкие аномалии

Аномалия Мея-Хегглина — редкое аутосомно-доминантное нарушение, для которого характерно наличие крупных телец Деле синего цвета в гранулоцитах и моноцитах, и гигантский размер некоторых тромбоцитов, иногда со скудным грануломером (рис. 79). Отмечается тромбоцитопения, степень которой коррелирует с вероятной кровоточивостью. Характерна мутация гена MYH9, которая приводит к нарушению выработки немышечной тяжелой цепи миозина типа IIA, вследствие чего развивается макротромбоцитопения. Включения в лейкоцитах представляют собой конгломераты тяжелых цепей миозина. Функция нейтрофилов и тромбоцитов считается нормальной [38].

Аналогичные изменения наблюдаются и в костном мозге (рис. 80).

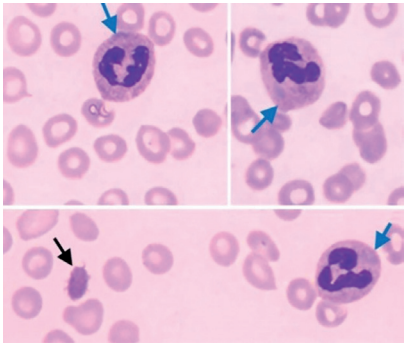


Рис. 79. Аномалия Мея-Хегглина. Нейтрофилы с тельцами Деле (синие стрелки). Внизу слева гигантский тромбоцит (черная стрелка)

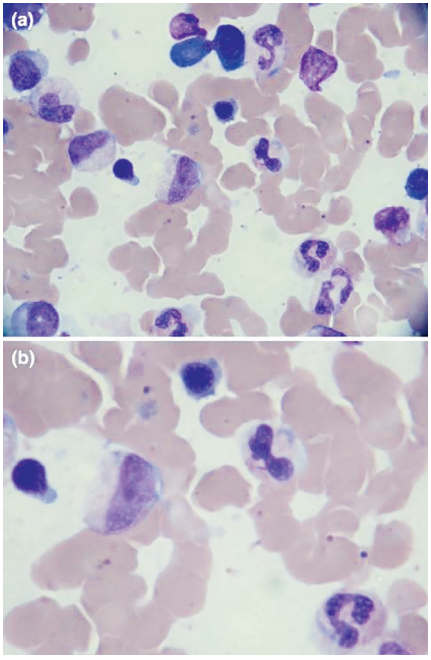


Рис. 80. Аспират костного мозга. Окраска по Май-Грюнвальд-Гимзе, ×1000. Включения телец деле в нейтрофилах [38]

Синдром Чедиака-Хигаси. Врожденный иммунодефицит. Характеризуется аномалией лизосом, при которой в нейтрофилах, моноцитах и клетках других ростков находятся крупные гранулы и (или) включения (рис. 81). Наследование аутосомно-рецессивное.

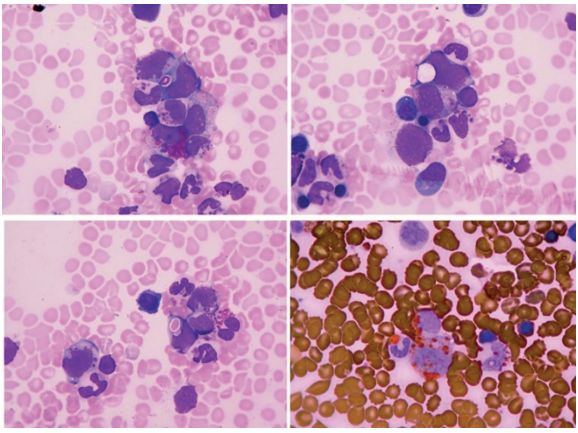


Рис. 81. Аномалия Чедиака-Хигаси. Атипчиная зернистость и крупные гранулы и различные включения в гранулоцитах различного уровня созревания. Справа внизу — окраска на миелопероксидазу, в нейтрофилах — резко положительная

Аномалия Альдера (аномалия Альдера-Рейли) — цитоплазма нейтрофилов содержит многочисленные темно-сиреневые или красно-фиолетовые гранулы, содержащие кислые мукополисахариды (рис. 82–83). Это наблюдается при ряде мукополисахаридозов: Гурлера (I тип), Хантера (II тип), Марото-Лами (VI тип) и Слая (VII тип). Для диагностики необходимо исследование ферментов, дефицит которых обусловливает сидром, и молекулярно-генетический анализ.

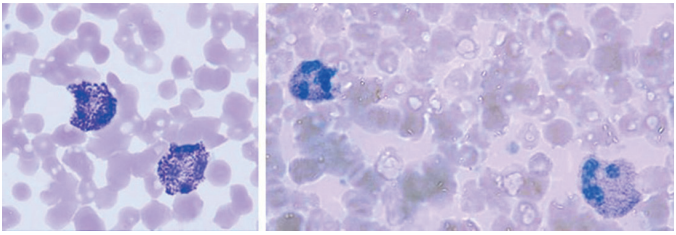


Рис. 82. Мукополисахаридоз VII типа (синдром Слая). Мазок крови. Слева — окраска по Романовскому-Гимзе, справа — окраска толуидиновым синим. Метахромазия выявляются при обеих окрасках

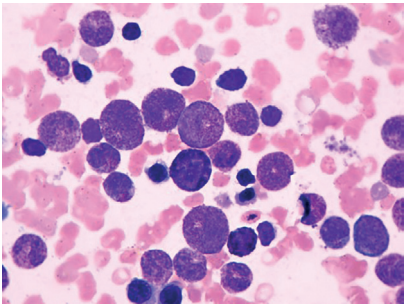


Рис. 83. Аномалия Альдева-Рейли, тип мукополисахаридоза не уточнен. Мазок костного мозга. Обильная крупная красно-фиолетовая зернистость в цитоплазме нейтрофилов

Аномалия Пельгера — генетически обусловленная доброкачественная (бессимптомная) аномалия, заключающаяся в нарушении сегментации ядер нейтрофилов. Большинство пельгеровских нейтрофилов имеет однодолевое, несегментированное ядро, по форме сходное с палочкоядерными клетками, а также в виде эллипса, круга, боба или почки. Встречаются ядра с намечающейся перетяжкой посередине, напоминающие по форме гимнастическую гирю. Часто преобладают клетки с двухсегментными ядрами. Часть пельгеровских нейтрофилов имеет крупную, обильную зернистость, в других же она мелкая, скудная. Структура ядер зрелых пельгеровских нейтрофилов обычно грубоглыбчатая, пикнотическая. Ядра с тремя сегментами встречаются очень редко. Как двухсегментные, так и трехсегментные формы отличаются пельгеровскими особенностями — короткими перемычками и комковатым строением ядер (рис. 84).

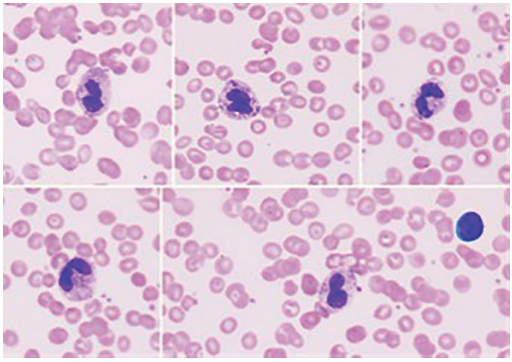


Рис. 84. Аномалия Пельгера. Мазок крови. Окраска азур-эозин, ув.× 1000

При аномалии Пельгера в эозинофилах, как и в нейтрофилах, при созревании клеток не происходит сегментация ядер (рис. 85).

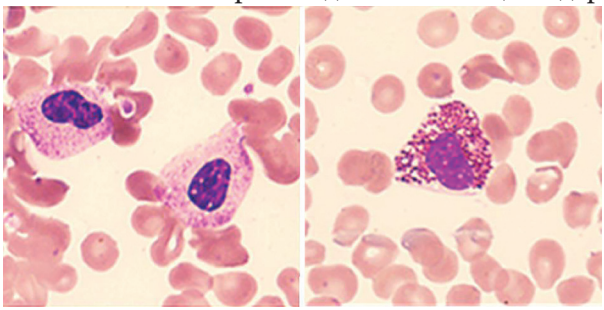


Рис. 85. Аномалия Пельгера, мазок крови. Нейтрофилы и эозинофилы имеют ядра со зрелой структурой хроматина без сегментации

По своим физиологическим свойствам — способности к фагоцитозу, содержанию ферментов, длительности циркуляции крови (клетки с данной аномалией не отличаются от нормальных). Аномалия наследуется по аутосомно-доминантному типу. Реакции носителей пельгеровской аномалии на инфекции, кровопотери и т. п. не отличаются от соответствующих реакций у практически здоровых людей. Во избежание ошибочной трактовки анализа при наличии указанных форм нейтрофилов врач КДЛ обязан дать заключение о том, что описанная картина крови характерна для аномалии лейкоцитов Пельгера. Желательно во всех случаях для уточнения заключения о наличии пельгеровской аномалии у пациента исследовать кровь родителей и при наличии у них соответствующих изменений сообщить об этом им и лечащему врачу. Это позволит избежать ошибочного толкования картины крови как «левого сдвига» нейтрофилов и неправильной тактики врача при любом заболевании носителя пельгеровской семейной аномалии. Данная аномалия не требует специального лечения.

Миелодиспластические / миелопролиферативные новообразования. К ним относятся следующие:

– хронический миеломоноцитарный лейкоз (ХММЛ);

– атипичный хронический миелоидный лейкоз;

– ювенильный миеломоноцитарный лейкоз;

– МДС / МПН с кольцевидными сидеробластами и тромбоцитозом;

– МДС/МПН, неклассифицируемые.

ХММЛ представляет собой клональное заболевание кроветворных клеток, комплекс гетерогенных состояний, которым присущи как черты с миелопролиферативных, так и миелодиспластических процессов. Диагноз CMML ставится с использованием морфологических критериев, включая лейкоцитоз с преобладанием моноцитов, диспластические изменения и увеличение количества бластов в костном мозге (рис. 86). В последнее время активно изучается значение оценки субпопуляций моноцитов с помощью мультипараметрической проточной цитометрии. Хромосомные аномалии являются основой стратификации риска CMML. Известно, что мутации в нескольких генах (включая ASXL1) важны не только для диагностики и лечения этого заболевания, но и для прогнозирования его исхода [39].

Основными диагностическими критериями ХММЛ являются:

– стойкое увеличение содержания моноцитов в крови — ≥10% (≥1 × 10^9/л);

– исключение BCR-ABL-положительного ХМЛ, ПМФ, истинной полицитемии и эссенциальной тромбоцитемии;

– отсутствие перестроек генов PDGFRA, PDGFRB, FGFR1 и PCM1-JAK2;

– содержание бластов в крови и/или в костном мозге <20%;

– наличие дисплазии по крайней мере в 1 миелоидной линии.

Если дисплазии нет, должен присутствовать по крайней мере 1 из следующих критериев:

– приобретенная клональная цитогенетическая или молекулярная аномалия в кроветворных клетках;

– стойкий моноцитоз ≥ 3 месяцев с исключением других причин.

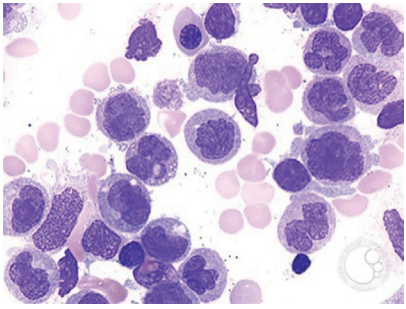


Рис. 86. Костный мозг. Окраска по Май-Грюнвальд-Гимзе, ×1000. ХММЛ (источник — сайт www.hematology.org)

Заключение

В клинической практике исследование нейтрофилов в последние годы пополнилось новыми методами: иммунофенотипирование методом проточной цитометрии, оценка окислительно-восстановительного статуса (НСТ-тест и другие) и т. д. Однако простая микроскопия стандартного мазка крови дает ценнейшую диагностическую информацию, основанную на оценке морфологических особенностей этих клеток.

К существенным морфологическим аномалиям этих клеток относят наряду с токсической зернистостью и токсическую вакуолизацию, гипо- и гипергранулярность, внутрилейкоцитарные включения — микроорганизмы, палочки Ауэра и другие.

Важнейшей задачей лабораторной гематолгии является диагностика гемобластозов. Она включает комплекс методов иммунофенотипирования клеток, кариотипирования, болекулярно-биологических методов детекции точечных мутаций. Однако начинается диагностчиеский маршрут при подозрении на опухолевое заболевание системы крови с тщательного изучения клинического анализа крови, морфологической характеристики клеток крови и костного мозга.

Глава 4.
МИЕЛОДИСПЛАСТИЧЕСКИЕ СИНДРОМЫ

Миелодиспластические синдромы — это группа заболеваний костного мозга, носящих клональный характер и возникающих в результате мутации стволовой клетки крови, которые не укладываются ни в одну известную форму заболевания системы крови, с высоким риском развития острого лейкоза. МДС может быть первичным или вторичным (связанным с цитостатической терапией, лучевым воздействием и т. д.). При этом потомки мутировавшей стволовой клетки сохраняют способность к дифференцировке до зрелых клеток. Однако процесс дифференцировки носит неэффективный характер, в результате чего количество зрелых клеток снижено, а их функции нарушены.

В соответствие с современной классификацией к МДС относят следующие состояния:

– МДС с однолинейной дисплазией;
– МДС с кольцевидными сидеробластами;
– МДС с КС и однолинейная дисплазия;
– МДС с КС и мультилинейная дисплазия;
– МДС с мультилинейной дисплазией;
– МДС с избытком бластов;
– МДС с изолированной делецией del(5q);
– МДС неклассифицированный.

Диагностика этих форм заболеваний основана на комплексном подходе, включающем прежде всего детальную оценку морфологических особенностей клеток и цитогенетические нарушения.

В данном разделе будут представлены морфологические признаки различных видов миелодисплазий.

Дисгранулоцитопоэз характеризуется следующими признаками (рис. 87–95):

– гранулоцитарная гиперплазия;
– увеличение числа миелобластов;
– палочки Ауэра;
– гипо— и гипергранулярность;
– пельгеровская аномалия;
– базофилия цитоплазмы зрелых клеток;
– увеличение размеров клеток;
– эозинофилы с кольцевидными ядрами.

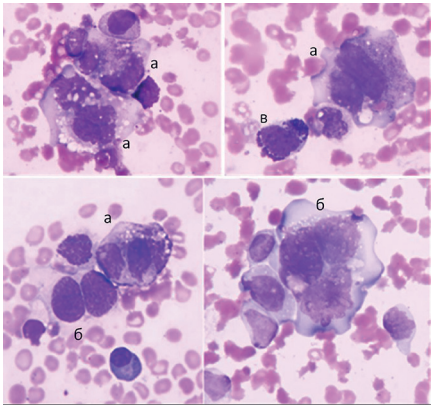


Рис. 87. Костный мозг (окраска по Романовскому, ×1000). МДС: а — гигантские двуядерные нейтрофилы, вакуолизация, неравномерное распределение зернистости; б — гигантские миелобласты (2-х и 3-ядерный); базофильный миелоцит

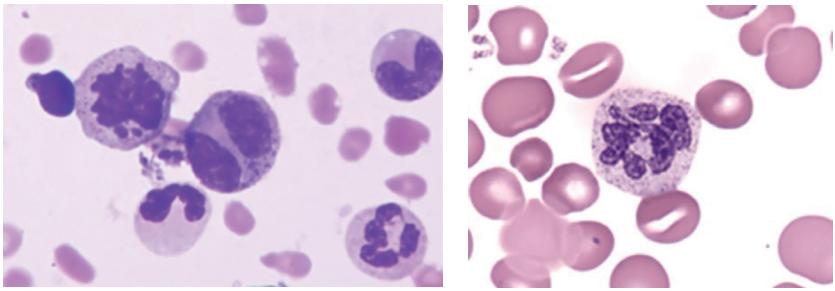


Рис. 88. Периферическая кровь (окраска азур-эохин, ×1000); а —гипогранулярность цитоплазмы некоторых нейтрофилов, неправильная сегментация ядер, слева — двуядерный миелоцит, патологический митоз; б — гиперсегментированный нейтрофил

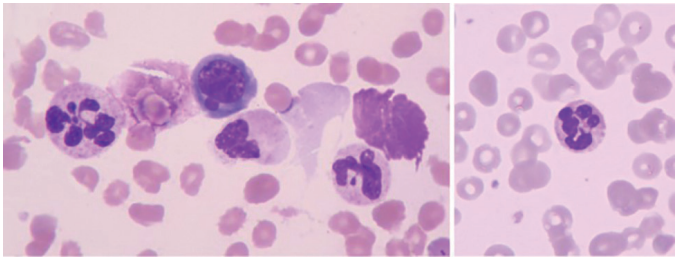


Рис. 89. Костный мозг (окраска по Романовскому, ×1000). Гипогранулярность нейтрофилов, гиперсегментация и неправильная сегментация ядер с образованием фрагментов, напоминающих «булаву»

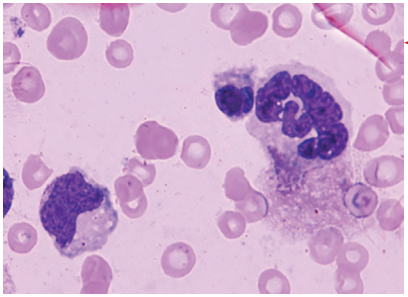
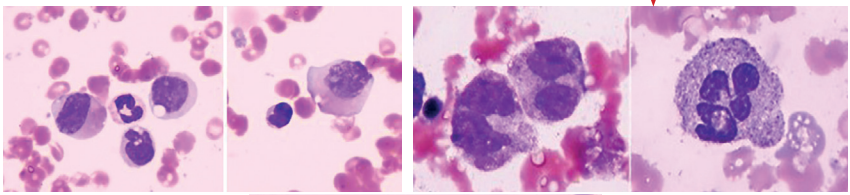
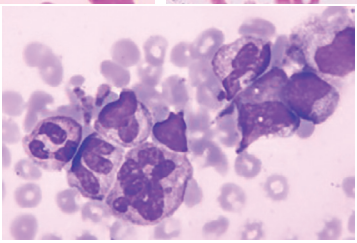


Рис. 90. Нейтрофилы различных размеров с гипогранулярной цитоплазмой

Рис. 91. Гигантские нейтрофилы при МДС





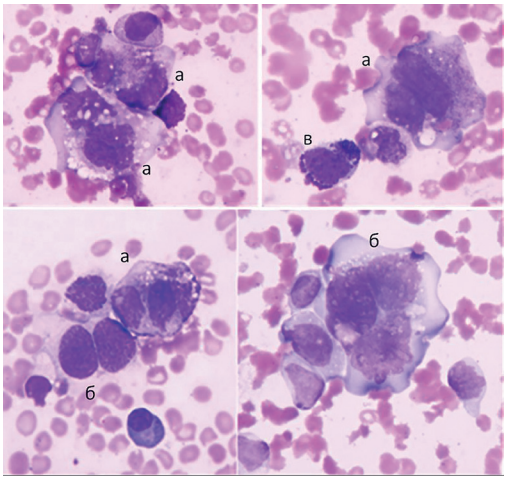


Рис. 92. МДС: а — гигантские двуядерные нейтрофилы, вакуолизация, неравномерное распределение зернистости; б — гигантские миелобласты (2-х и 3-ядерный); базофильный миелоцит

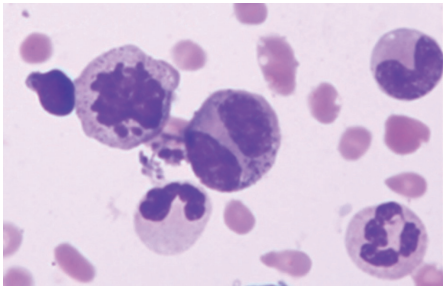


Рис. 93. Костный мозг (окраска по Романовскому, ×1000). Гипогранулярность цитоплазмы некоторых нейтрофилов, неправильная сегментация ядер, слева — двуядерный миелоцит, патологический митоз

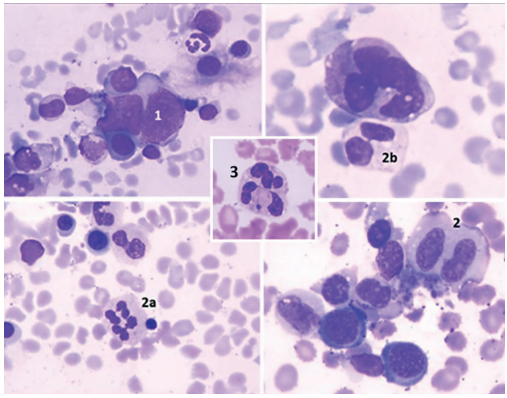


Рис. 94. Изменения ядер нейтрофилов при МДС, близкие к картине миелокатексиса: 1 — двуядерный бласт; 2 — метамиелоцит с двухсегментным ядром; 2a — нейтрофил с двумя сегментированными ядрами; 2b — нейтрофил с 2-сегментным ядром, над ним — гигантский сегментоядерный нейтрофил; 3 — гиперсегментированное ядро с длинными межсегментными перемычками

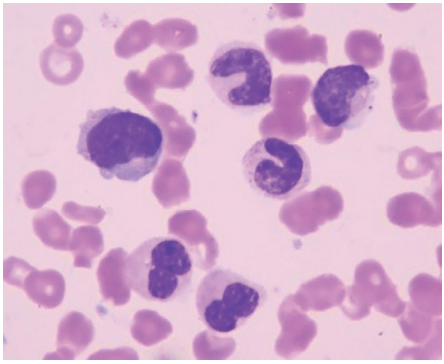


Рис. 95. Пельгеровская аномалия (пельгероид) при МДС

У базофилов встречаются признаки дисплазии, которые заключаются в очень неравномерном расположении гранул в цитоплазме (рис. 96).

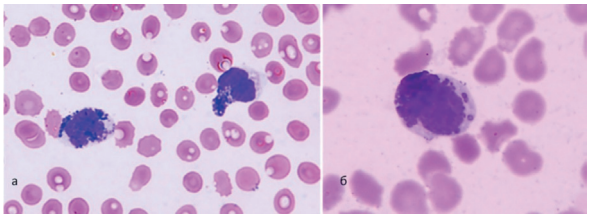


Рис. 96. Дисплазия базофилов. Неравномерное распределение гранул в цитоплазме: а — хронический миеломоноцитарный лейкоз (ХММЛ), зрелые базофилы; б — МДС, базофильный миелоцит

Дизэритропоэз — эритроидная гиперплазия костного мозга, мегалобластоидность, многоядерность, фрагментация ядер, межъядерные мостики, вакуолизация цитоплазмы, PAS-позитивные нормобласты, кольцевые сидеробласты.

В качестве примера можно привести клинический случай.

Женщина, 60 лет, жалобы на астению и цитопению. В анализе крови гемоглобин — 75 г/л, лейкоциты — 1.2 × 10^9/L, тромбоциты — 25 × 10^9/L. В аспирате костного мозга 7% миелобластов и 69% эритробластов с признаками дисэритропоэза: цитоплазматические вауоли, межъядерные мостики, многоядерные клетки, фигуры митоза. Некоторые эритробласты микроядерные (рис. 97). Цитогенетически выявлен клон клеток с кариотипом: 43~45,XY,-5,-7,—. 18,?add(19)(q13.3),+mar1,min[cp20]. Был установлен диагноз МДС с избытком бластов [39].

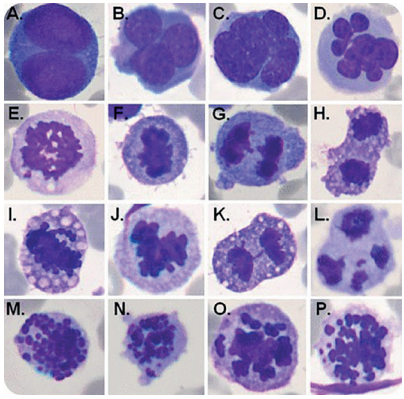


Рис. 97. Костный мозг (окраска по Май-Грюнвальду, ×600). Дисэритропоэз при рефрактерной анемии [39]

Другие проявления дизэритропоэза представлены ниже (рис. 98–100).

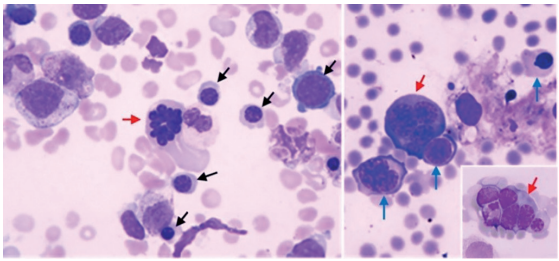


Рис. 98. Костный мозг (окраска по Романовскому, ×1000). Трехростковая цитопения с мультилинейной дисплазией. Наряду с нормальными эритрокариоцитами (черные стрелки) видны гигантские одноядерные (синие стрелки) и многоядерные (красные стрелки на правом снимке) клетки эритропоэза. На левом снимке красной стрелкой помечен мегалобласт

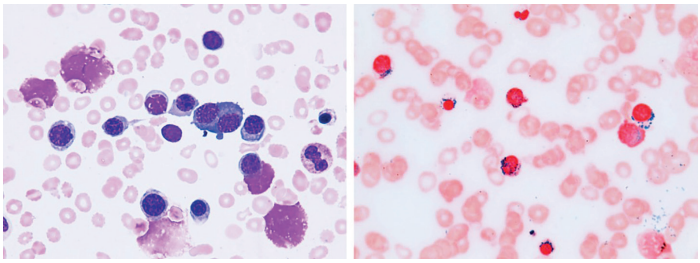


Рис. 99. Рефрактерная анемия с кольцевыми сидеробластами. Слева — окраска азур-эозином, справа — окраска на железо.

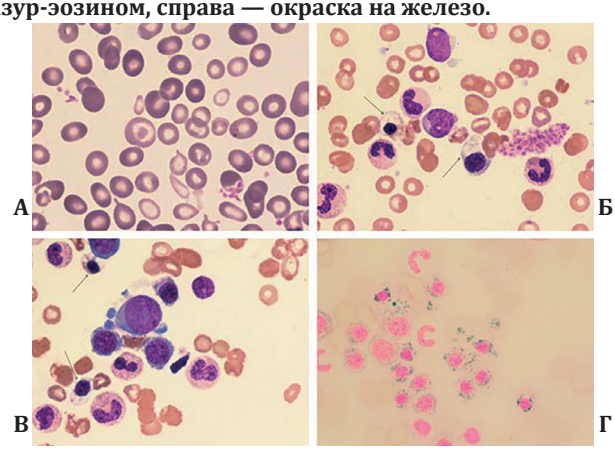
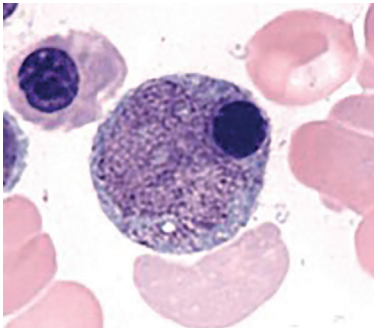


Рис. 100. А — периферическая кровь; диморфизм эритроцитов: гипохромные микроциты и гиперхромные макроциты; Б, В — костный мозг, микроэритробласты; Г — кольцевидные сидеробласты. Окраска по Перлсу [40]



Признаки дисплазии клеток моноцитарной линии — моноциты с множественными вытянутыми лопастями, цитоплазмы, афзурофильные гранулы в цитоплазме, гемофагоцитоз, железосодержащие макрофаги (рис. 101-102).

Рис. 101. Гемофагоцитоз. Препарат костного мозга

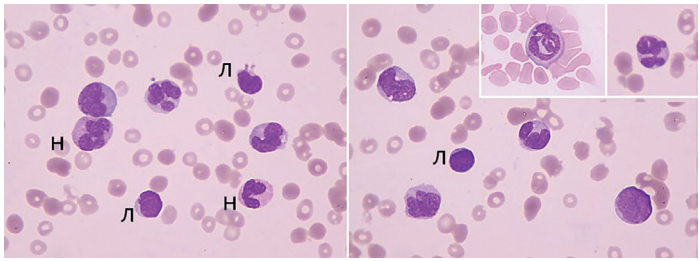


Рис. 102. Костный мозг (окраска азур-эозин, ×1000). ХММЛ. Разнообразие клеток моноцитарного ростка: различная степень дифференцировки и формы ядер, преобладают сегментированные моноциты (сдвиг вправо); н — нейтрофилы; л — лимфоциты; справа внизу — миелобласт

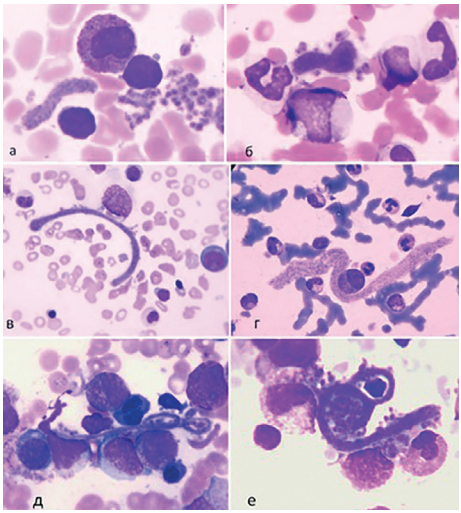


Рис. 103. Гигантские тромбоциты при МДС

Признаки дисплазии клеток мегакариоцитарной линии —микромегакариоциты, митотические фигуры, крупные мегакариоциты с мелкими круглыми ядрами, пикноз, гигантские тромбоциты (рис. 103–108).

Гигантские тромбоциты различной формы свидетельствуют о нарушениях в процессе формирования тромбоцитов в цитоплазме мегакариоцитов и часто встречаются при МДС, но это не является ни обязательным признаком, ни патогномоничным.

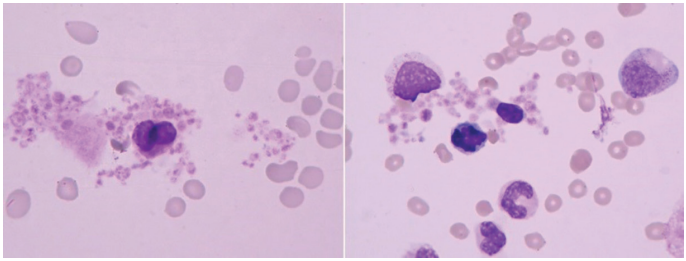


Рис. 104. Микро-МКЦ при МДС

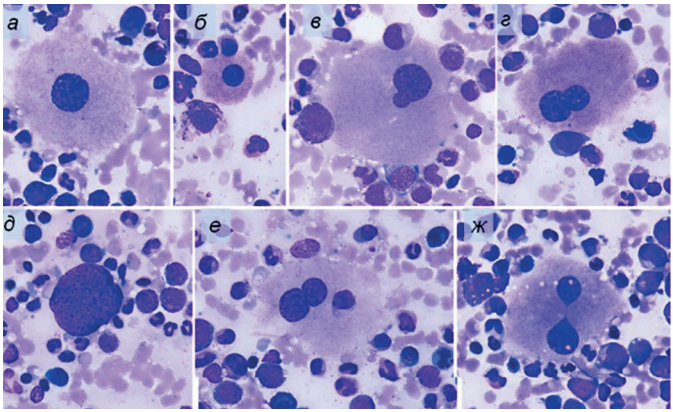


Рис. 105. МДС у женщины 84 лет. Мегакариоциты с круглыми или малодольчатыми ядрами. Справа от ядра МКЦ — лимфоцит; ж — цепочка ложных вакуолей, появление которых обусловлено образованием мельчайших пузырьков воздуха во время приготовления мазка

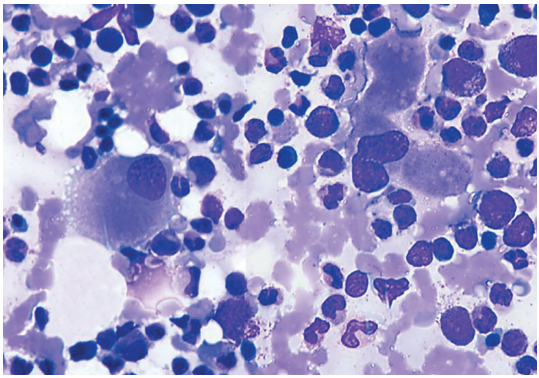


Рис. 106. Два диспластичных мегакариоцита той же пациентки

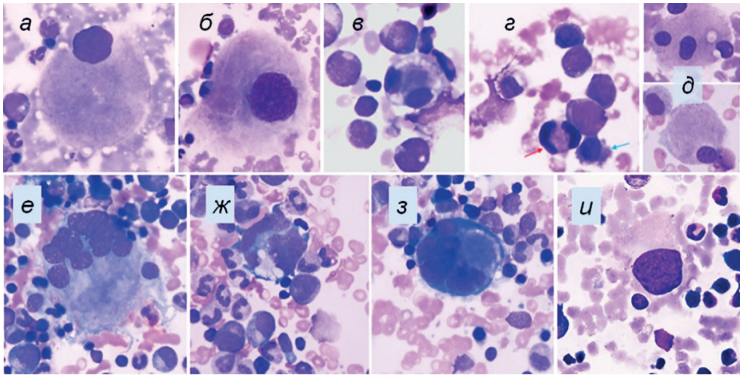


Рис. 107. Мегакариоциты с признаками дисплазии: а, б, г (синяя стрелка), д (нижний), и — одноядерные мегакариоциты с недольчатыми ядрами; д (верхний) — 4-ядерный микро-МКЦ; в, г — двуядерные микрокариоциты и одноядерный; е — выраженная сегментация ядра МКЦ и одно расположенное отдельно очень маленькое ядро; ж — 3-ядерный МКЦ без зернистости с выраженной вакуолизацией цитоплазмы; з — МКЦ с формированием одного гигантского тромбоцита

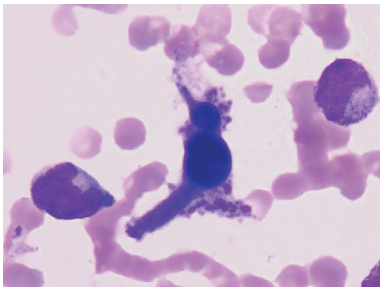


Рис. 108. Атипичный микро-МКЦ при нейробластоме

Нередко при МДС встречаются аномлии клеток различных кроветворных ростков, например в эритроидном и мегакариоцитарном (рис. 109).

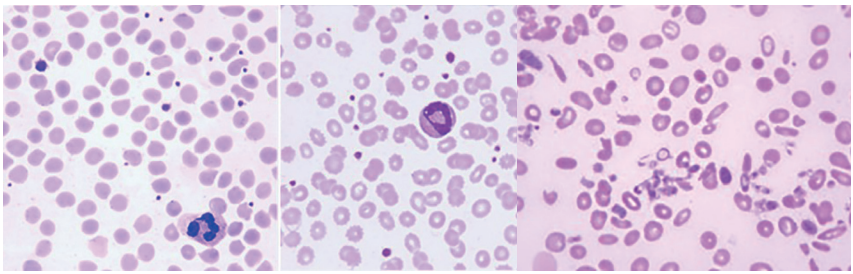


Рис. 109. Периферическая кровь. МДС, тромбоцитоз. А — выраженный анизоцитоз тромбоцитов с преобладанием очень мелких; Б — нейтрофил с кольцевым ядром; В — анизоцитоз и пойкилоцитоз эритроцитов и тромбоцитов

Глава 5.
ТУЧНЫЕ КЛЕТКИ

Происхождение тучных клеток (ТК) долгие годы дискутировалось, но сейчас большинство специалистов считают, что имеется самостоятельный предшественник ТК, независимый от клетки-предшественницы базофилов, который дифференцируется из общего эритромиелоидного предшественника [41, 42].

Тучные клетки (мастоциты, лаброциты) имеют ряд особенностей морфологии (рис. 110–112). Количество и плотность расположения гранул и разная способность распластываться по стеклу при приготовлении мазка приводят к их большому разнообразию в мазках костного мозга. Обильная темно-фиолетовая зернистость ТК может маскировать ядро, которое не различается или едва просвечивает за гранулами. При меньшем количестве гранул и их более светлой окраске ядро хорошо контурируется, оно имеет круглую или овальную форму. Форма ТК разнообразна — от правильной круглой или овальной до веретенообразной, часто разнообразно изогнутой. У поврежденных клеток мембрана не прослеживается, гранулы рассыпаны вокруг ядра на различном расстоянии от него.

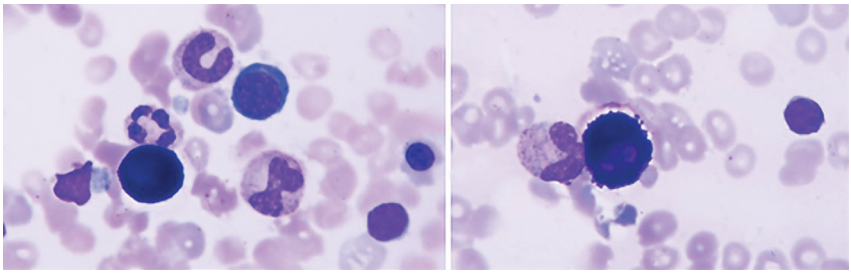


Рис. 110. Очень темные тучные клетки: слева — с почти гладким контуром; справа по контуру клетки видны выступающие гранулы, ядро подразумевается в зоне просветления. Такие клетки — «чернильные кляксы» — трудно узнать без специальной подготовки врача

Тучные клетки встречаются в мазках костного мозга при различной патологии и редко у здоровых людей. Они легко обнаруживаются при ХЛЛ, апластической анемии, МДС. Тучные клетки в этих случаях чаще всего очень темные, имеют округлую или веретенообразную форму.

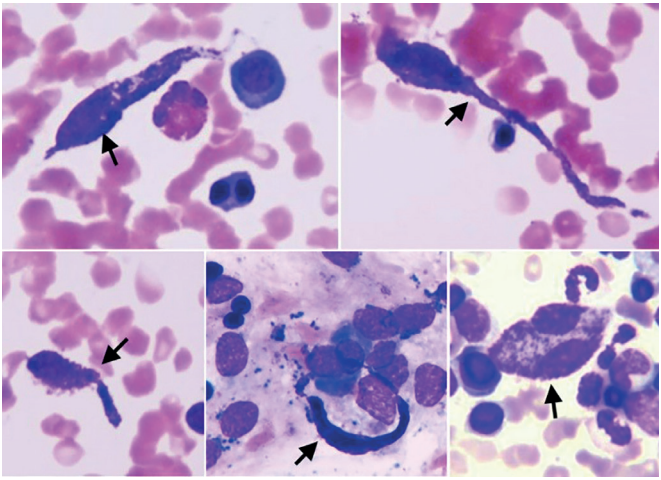


Рис. 111. Варианты форм тучных клеток: вытянутые, различно изогнутые, справа внизу — двуядерная ТК

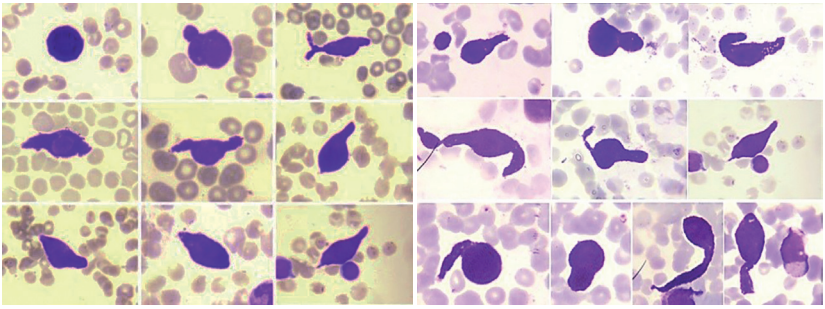


Рис. 112. Разнообразие форм тучных клеток в мазках костного мозга (микрофото А.М. Попова)

Опухоль из ТК — мастоцитоз, относится к МПН. Мастоцитоз — гетерогенная группа клональных заболеваний, характеризующихся пролиферацией и накоплением ТК в различных тканях, главным образом в коже и костном мозге. Сответственно выделяют кожный мастоцитоз (характерен для детского возраста) и системный мастоцитоз, поражающий различные ткани и встречающийся преимущественно у взрослых. Подтипы болезни варьируются от вялых до редких агрессивных форм. Хотя мастоцитоз рассматривается как редкое заболевание, считается, что оно, скорее всего, недостаточно диагностировано [43].

К его критериям относят наличие в аспирате костного мозга 20% и более тучных клеток. В типичных случаях в крови ТК 10% и больше, но можно диагностировать и алейкемический ТК-лейкоз. Редко при очень агрессивных формах имеется сплошной инфильтрат с отсутствием миелопоэтических и жировых клеток. ТК имеют признаки атипии: гипогранулярность, ядра моноцитоидные (промастоциты) или двудольные, иногда встречаются тучноклеточные бласты, что подтверждается наличием метахроматической зернистости.

При мастоцитозе в мазках костного мозга среди ТК преобладают светлые, содержащие меньшее количество часто рыхло расположенных гранул, вплоть до их полного отсутствия; гранулы более светлые (рис. 113–115). Встречаются двуядерные и даже 3-ядерные клетки.

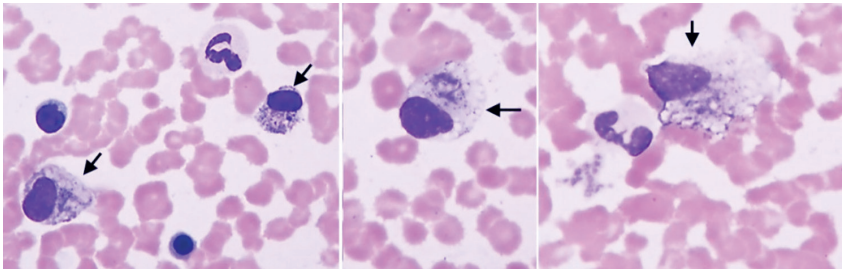


Рис. 113. Гипогранулярные тучные клетки при системном мастоцитозе (стрелки). Некоторые клетки имеют моноцитоидные черты. Мазок костного мозга

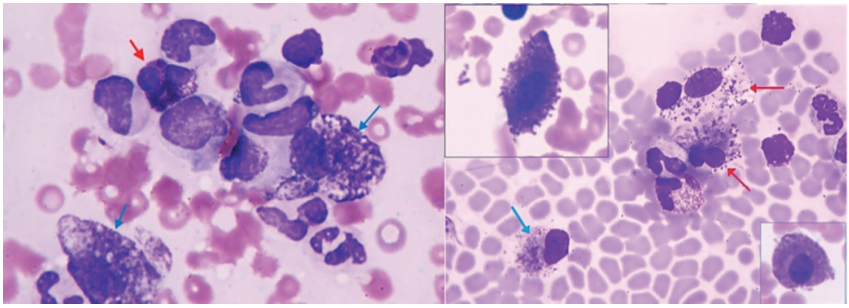


Рис. 114. Костный мозг (окраска по Романовскому, ×1000). Системный мастоцитоз, мазки костного мозга: тучные клетки с небольшим количеством светлых гранул (синие стрелки), двуядерные ТК (красные стрелки); на врезках ТК с плотным ядром и большим количеством светлых гранул

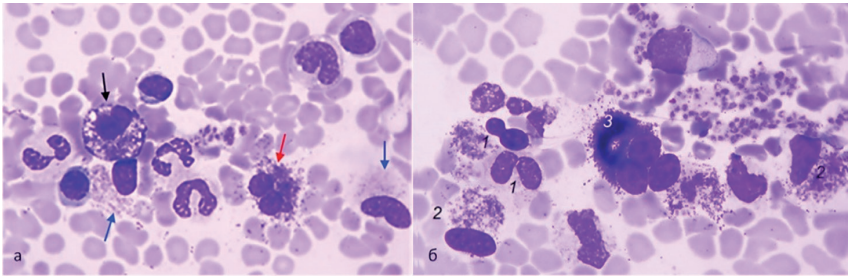


Рис. 115. Системный мастоцитоз: а — только одна тучная клетка (черная стрелка) с сохраненной мембраной, другие — одноядерные (синие стрелки) и двуядерная (красная стрелка) — сильно повреждены; б — две двуядерные (1), две одноядерные (2) и трехядерная (3) ТК. Мембрана всех ТК повреждена, гранулы рассыпаны

Иногда ТК могут иметь достаточно экзотический вид при ХМПЗ/МДС, например, «пенистые» мастоциты (рис. 116).

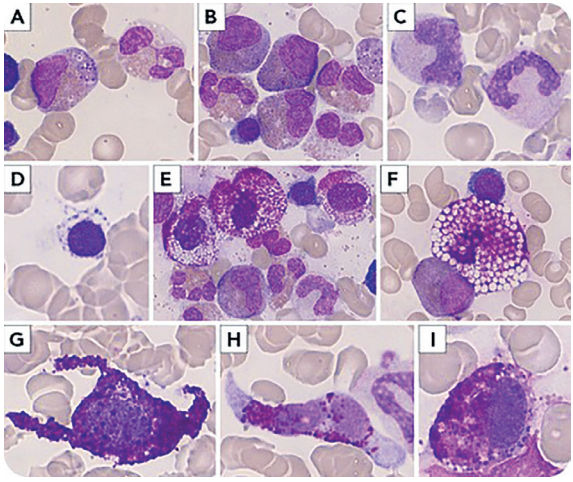


Рис. 116. Костный мозг (окраска по Май-Грюнвальд-Гимза, ×1000). Случай «пенистого» мастоцитоза [44]

По мазкам костного мозга вывод о варианте мастоцитоза сделать невозможно. Необходимо знание клинической картины и дополнительных лабораторных исследований.

Глава 6.
ЛИМФОЦИТЫ

Лимфоциты, как и другие клетки крови, берут свое начало от стволовой кроветворной клетки, формируя лимфоидный росток кроветворения. Лимфопоэз, являясь составной частью гемопоэза, имеет ряд особенностей, к которым относится прежде всего широкий репертуар клеточных популяций (Т- и В-лимфоциты, натуральные киллеры), обладающих уникальными способностями распознавать антигены.

При окраске мазков крови, костного мозга, отпечатков лимфоидных органов по Романовскому-Гимзе можно различать лишь несколько морфологических вариантов лимфоцитов, но определить принадлежность их к Т- или В-линии невозможно.

В норме преобладают малые лимфоциты, имеющие размер несколько больший, чем размер эритроцита, узкую слабо базофильную цитоплазму, округлое или слегка деформированное ядро с глыбчатой структурой хроматина (по образному выражению А.И. Воробьева — «горы и долины»). Малые лимфоциты могут иметь разнообразную форму (рис. 117).

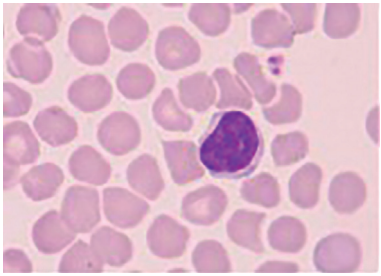


Рис. 117. Периферическая кровь (окраска по Романовскому, ×1000). Малый лимфоцит

Встречаются средние лимфоциты, имеющие более светлые ядра и более широкую цитоплазму, размером несколько больше эритроцита.

В крови всегда имеется небольшой процент больших гранулярных лимфоцитов (4–10%). У них несколько больший размер, более широкая цитоплазма, в которой имеются азурофильные гранулы разного размера и в различном количестве (рис. 118).

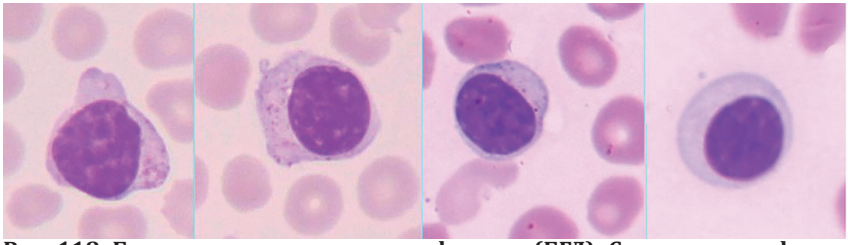


Рис. 118. Большие гранулярные лимфоциты (БГЛ). Справа — лимфоцит без гранул, но иммунофенотип соответствует БГЛ

По аналогии с гранулоцитами, патологические изменения лимфоидного ростка могут быть количественными (лимфоцитоз, лимфопения) и качественными (реактивными и опухолевыми).

Лимфоцитоз характерен для хронических воспалительных процессов, в том числе бактериальных инфекций, протекающих по типу гиперчувствительности замедленного типа (сифилис, туберкулез, бруцелез).

Лимфопении встречаются при вирусных инфекциях, иммунодефицитных состояниях.

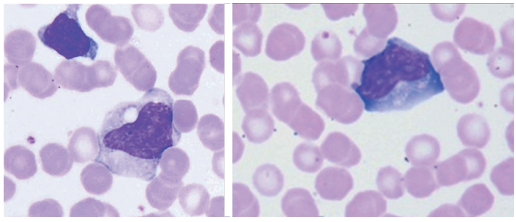


Рис. 119. Активированный лимфоцит при вирусной инфекции. Периферическая кровь. Окраска по Романовскому, ×1000

Реактивные лимфоциты раньше называли активированными или атипичными, однако в соответствии с рекомендациями ICSH следует называть их именно реактивными. Они чаще встречаются при вирусных инфекциях, например, вызванных вирусом Эпштейн-Барр (рис. 119).

«Клетки Сезари» являются CD2+, CD4+ лимфоцитами; они составляют популяцию клеток крови и костного мозга, которые встречаются при синдроме Сезари. Их ядра имеют складчатую структуру, напоминающую извилины мозга, поэтому их называют «мозговидными» клетками. При грибовидном микозе (Т-клеточный лейкоз) эти клетки находятся в очагах поражения кожи. У некоторых пациентов при синдроме Сезари в крови и в мазках костного мозга имеются подобные, но более мелкие клетки с грубой структурой ядер (рис. 120–121).

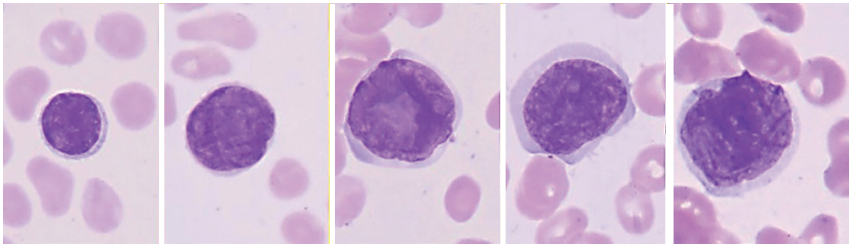


Рис. 120. Клетки Сезари в мазке крови

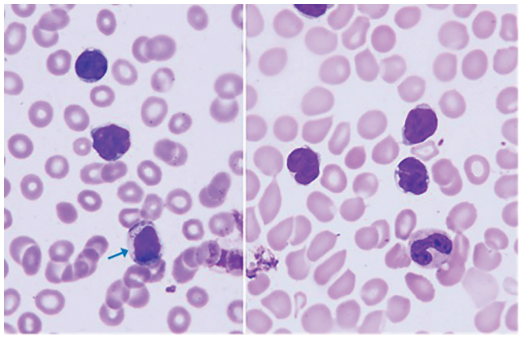


Рис. 121. Синдром Сезари с мелкими клетками Люцнера. Стрелкой показан БГЛ

Острые лимфобластные лейкозы. Ниже приведено несколько не вполне типичных иллюстраций острых лимфобластных лейкозов (рис. 122–123).

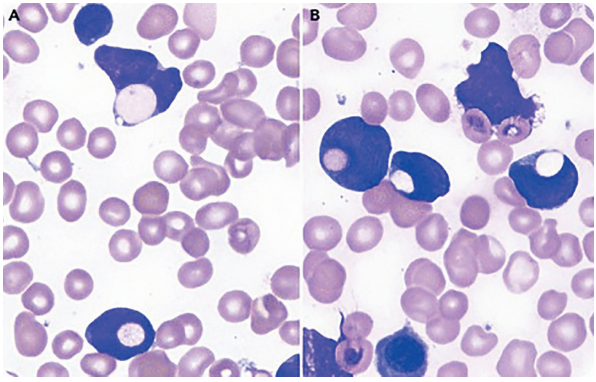


Рис. 122. Костный мозг (окраска по Райту, ×1000). Пре-В-клеточный острый лимфобластный лейкоз с эритрофагоцитозом лимфобластами (иммунофенотип B-ALL; CD19+TdT+CD10–)[45]

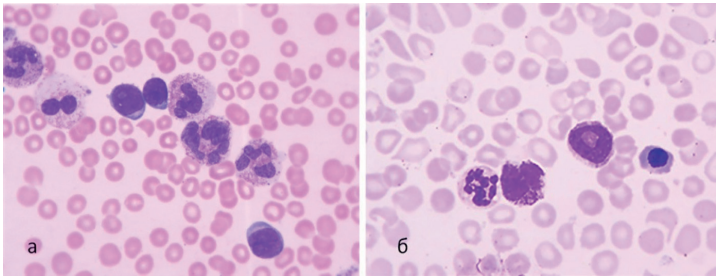


Рис. 123. Костный мозг (окраска по Романовскому, ×1000). ОЛЛ, В2. Дисплазия эозинофилов: а — гиперсегментация ядер и гипогранулярность эозинофилов, три лимфобласта; б — эозинофил с кольцевым ядром, гиперсегментация ядра нейтрофила как следствие химиотерапии

Плазмоциты (плазматические клетки) являются конечным этапом дифференцировки В-лимфоцитов, основной функцией которых является синтез иммуноглобулинов. У здоровых людей в периферической крови практически не встречаются. В костном мозге как у здоровых людей, так и при иммунном ответе можно увидеть различные варианты плазмоцитов. У этих клеток, за редким исключением, имеется светлый участок цитоплазмы различных размеров с одной стороны ядра, часто встречаются вакуоли, обычно немногочисленные. Нередко при иммунной патологии и опухолях встречаются плазмоцитарные островки (рис. 124). Иногда в плазмоцитах видны пузырьковидные включения в цитоплазме (тельца Russel'a), а иногда и в ядре (тельца Dutcher'a).Они представляют собой цистерны аппарата Гольджи и содержат иммуноглобулины (рис. 125).

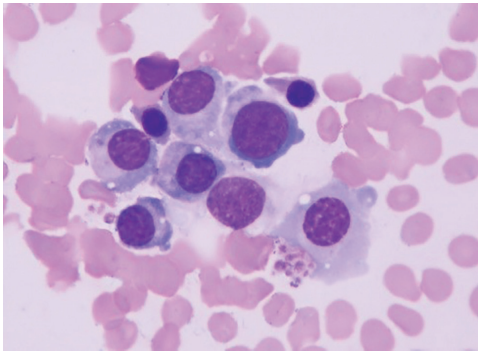


Рис. 124. Костный мозг (окраска по Романовскому, ×1000). Плазмоцитарный островок в мазке костного мозга

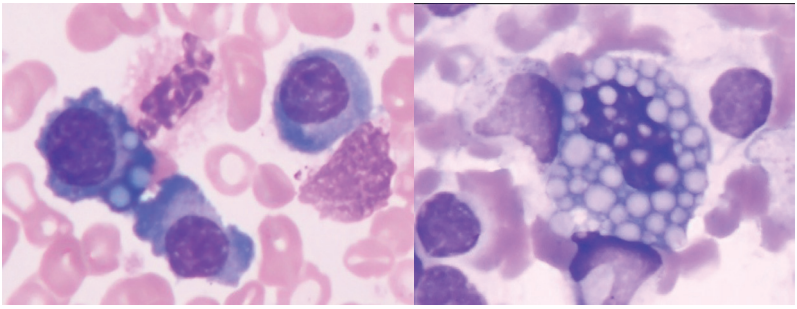


Рис. 125. Костный мозг (окраска по Романовскому, ×1000). Слева — тельца Рассела в одном из плазмоцитов; справа — множество телец в плазмоците. Такие плазмоциты называют клетками Мотта

Как при иммунных реакциях, так и при миеломе могут встречаться плазмоциты с кристаллическими иммуноглобулинами (рис. 126–127).

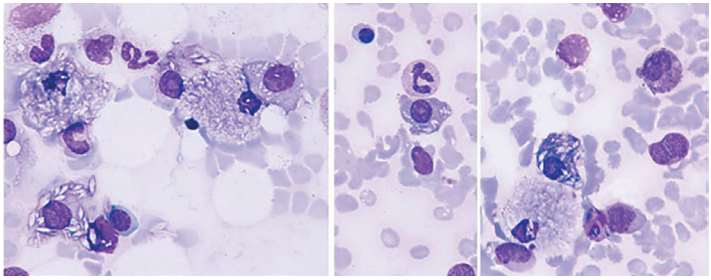


Рис. 126. Кристаллы IgA в миеломных клетках и макрофагах, в которые они попадают из разрушенных плазмоцитов

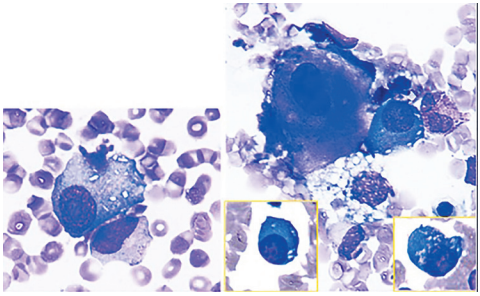


Рис. 127. Костный мозг (окраска азур-эозин, ×1000). Кристаллы иммуноглобулина в миеломных клетках у больной в ремиссии (по формальным критериям): нормальный анализ крови, в миелограмме плазмоцитов 2,4%, белок сыворотки крови 74 г/л, γ-глобулины 10,8 г/л, IgA 1,03г/л, IgM 0,44г/л, IgG 8,60 г/л, легкие цепи каппа 1,83 г/л, лямбда 1,33 г/л, нормальные геморенальные показатели, удельный вес мочи 1.030. Однако видно, что миеломные клетки морфологически молодые. Слева — в ядре клетки крупная нуклеола, справа — в толстой части мазка нуклеолы в ядрах четко не конкурируются

Иногда за плазмоциты ошибочно принимают остеобласты (рис. 128). Особенностью остеобластов является полярное расположение ядра (оно как будто покидает клетку), и овальное просветление в цитоплазме часто создает впечатление, что это след перемещенного в другое место ядра клетки.

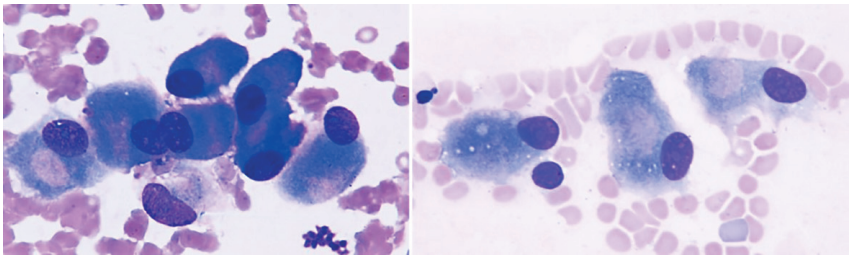


Рис. 128. Костный мозг (окраска по Романовскому, ×1000). Остеобласты

Опухоли из плазмоцитов (плазмоцитома, миеломная болезнь, множественная миелома)

Происхождение термина **«миеломная клетка»** относится к XIX веку, когда некоторые неэпителиальные опухоли назывались по принадлежности к пораженной ткани, в которой ее находили: опухоли лимфоузлов называли **лимфомами**, а опухоли в спонгиозных костях, опухоли костного мозга — **миеломами**.

Миеломные клетки морфологически разнообразны (рис. 129–133).

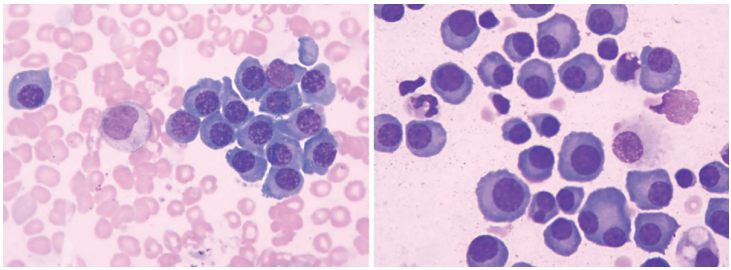


Рис. 129. Костный мозг (окраска по Романовскому, ×1000). Слева — мазок костного мозга при миеломе, группа плазмоцитов; справа — плазмоцитарное поражение плевры, мазок из осадка экссудата. Это был первый признак, направивший диагностику в нужном направлении

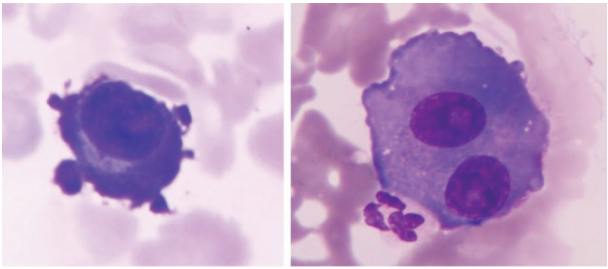


Рис. 130. Костный мозг (окраска по Романовскому, ×1000). Миеломные клетки с темной сине-фиолетовой цитоплазмой

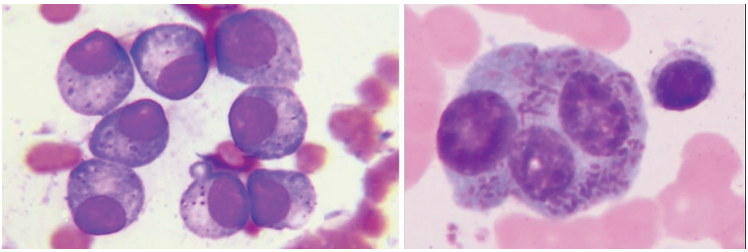


Рис. 131. Костный мозг (окраска по Романовскому, ×1000). «Зернистые» миеломные клетки

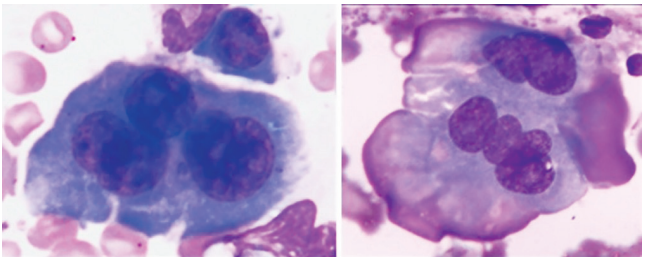


Рис. 132. Костный мозг (окраска по Романовскому, ×1000). Многоядерные миеломные клетки. Справа — гигантская многоядерная клетка с частично пламенеющей цитоплазмой

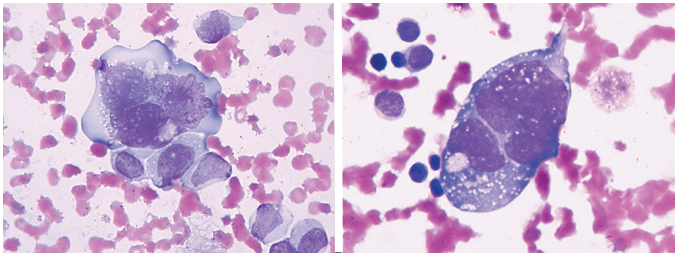
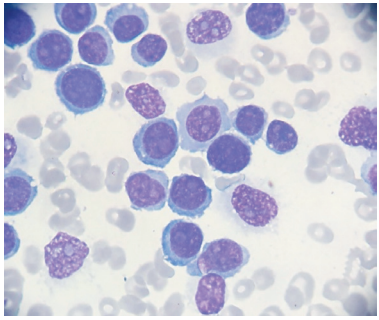


Рис. 133. Костный мозг (окраска по Романовскому, ×1000). Гигантские многоядерные миеломные клетки



Гораздо реже встречается плазмобластный лейкоз (рис. 134).

В заключение данного раздела приводим клинический пример необычной лимфоцитарно-плазмоцитарной реакции у пациента с новой коронавирусной инфекцией (рис. 135).

Рис. 134. Костный мозг (окраска по Романовскому, ×1000). Острый плазмобластный лейкоз. Диагноз подтвержден иммунофенотипированием)

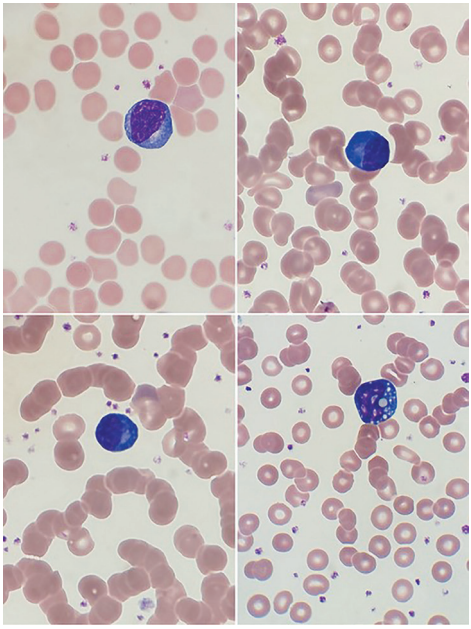


Рис. 135. Пациент с новой коронавирусной инфекцией (SARS-CoV-2), подтвержденной позитивным ПЦР-тестом

В анализе крови лейкоциты 9.8×10^9/л, нейтрофилы — 8.5×10^9/л, лимфопения. В мазке крови реактивные (атипичные) лимфоциты с эксцентрично расположенным ядром, интенсивно базофильной цитоплазмой и перинуклеарной зоной просветления, цитоплазматическими включениями (клетки Мотта). Эти клетки можно назвать плазмоцитоидными лимфоцитами.

Глава 7.
МОНОЦИТЫ И МАКРОФАГИ

Моноциты и макрофаги составляют систему мононуклеарных фагоцитов. Эти клетки имеют общего гемопоэтического предшественника (КОЕ-ГМ) и сходные функции.

Монобласт. Первой морфологически распознаваемой клеткой в данном дифферoне является монобласт — крупная клетка диаметром 20–30 мкм с округлым / овальным ядром, нежным хроматином и одной или двумя вакуолями. Цитоплазма базофильна и обычно не имеет гранул.

Промоноцит. Крайне редко встречается в периферической крови при реактивных состояниях, лейкозах. Это крупная клетка с «изогнутым» / изрезанным ядром с нежным «кружевным» хроматином и остаточной нуклеолой. Цитоплазма сине-серая и может иногда содержать единичные красно-фиолетовые гранулы. Лейкозные промоноциты рекомендовано при подсчете суммировать с бластами при подозрении на ОМЛ.

Зрелые моноциты — крупные клетки, имеющие бобовидное, почковидное или менее определенной формы ядро, различное ядерно-цитоплазматическое соотношение, близкое к 1 : 1, дымчатую цитоплазму разных оттенков (слабо базофильную или бледно-сиреневую), в которой нередко имеется мелкая (пылевидная) зернистость. На цвет клеток существенно влияет pH красителя, он зависит также от характеристик осветителя и от цвета предметного стекла (рис. 136). Поэтому так важно соблюдать технику приготовления мазка крови на новых предметных стеклах.

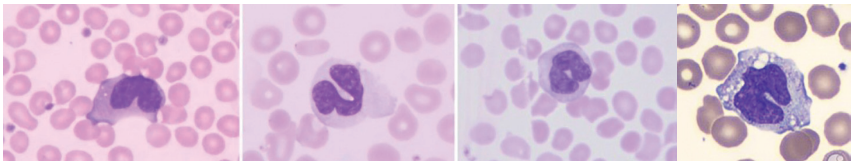


Рис. 136. Моноциты с нормальной морфологической характеристикой. Разный цвет их зависит от характеристик осветителя микроскопа, особенностей окраски и от цвета предметного стекла

Патология моноцитов

Моноцитоз — увеличение количества моноцитов в крови более 0,8 × 10^9/л может быть реактивным при инфекционных (вирусные, грибковые, протозойные инфекции, туберкулез), ревматических и других заболеваниях, а также опухолевых, например, при гемобластозах.

При патологических процессах меняется не только количество моноцитов, но и их морфология (рис. 137–138).

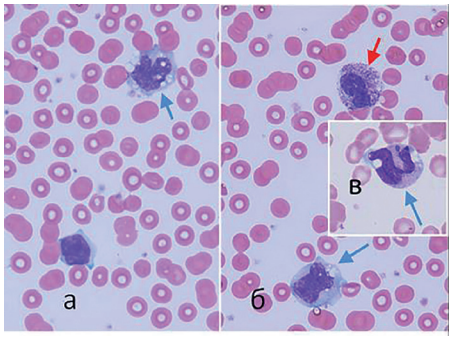


Рис. 137. Тяжелая бактериальная инфекция: а, б, в — вакуолизация моноцитов (синие стрелки); б — нейтрофил с токсогенной зернистостью (красная стрелка); в — сегментация ядра моноцита

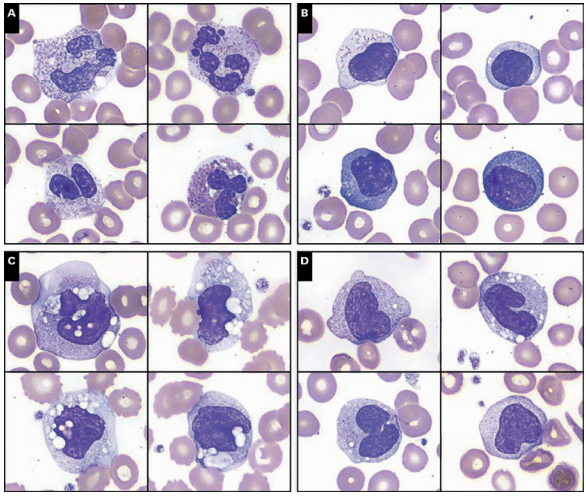


Рис. 138. Периферическая кровь (окраска по Райту, ×1000). Нейтрофилы (a) и моноциты (b, c, d) при новой коронавирусной инфекции. Количество моноцитов в крови существенно не изменяется, но отмечатеся вакуолизация цитоплазмы [47]

Иногда при новой короновирусной инфекции в моноцитах появляются сине-зеленые включения (рис. 139).

Острый монобластный лейкоз. Монобласты имеют вполне определенные морфологические характеристики, представленные выше. Однако в ряде случаев, например при ОМЛ, встречаются атипичные монобласты (рис. 140).

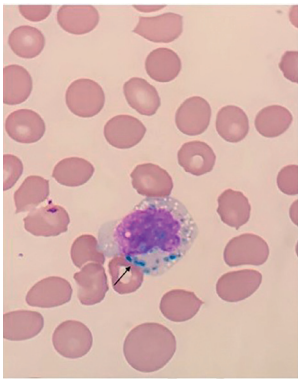
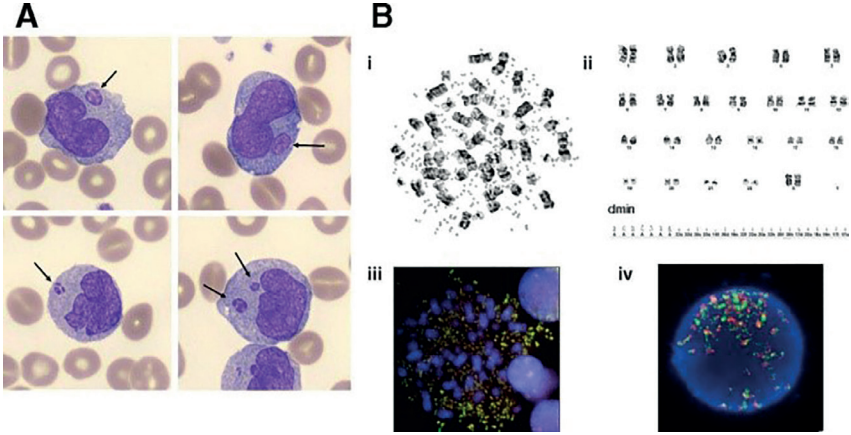


Рис. 139. Периферическая кровь (окраска по Романовскому). Сине-зеленые включения в цитоплазме гранулоцитов при COVID19 [48]

Рис. 140. Костный мозг. А (окраска по Май-Грюнвальд-Гимза) — костный мозг гиперклеточный, 76% монобластов и промоноцитов. В препаратах монобласты с микроядрами, внутриклеточными ядерными включениями. Иммунофенотип бластов HLA-DR, CD13, CD33 (very bright), CD14, CD11b, CD36, CD64, что подтверждает диагноз ОМЛ-М5.-М5). Кариотип : 46,XX,del(13)(q14q21),5~25dmin[3]/46,XX,5~70dmin. FISH — выявлено увеличение числа копий MYC [49]



Макрофаги костного мозга имеют, как принято считать, моноцитарное происхождение. Они выполняют разнообразные функции, включая синтез большого числа регуляторных цитокинов. Однако морфологически в препаратах костного мозга мы можем видеть преимущественно макрофаги-«мусорщики». Они содержат в часто вакуолизированной цитоплазме остатки ядерной субстанции погибших клеток (рис. 141).

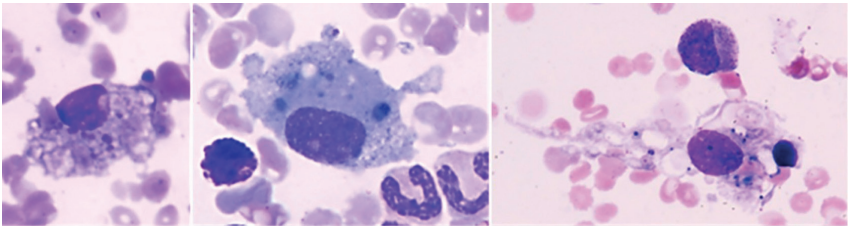


Рис. 141. Костный мозг (окраска по Романовскому, ×1000). Макрофаги с фагоцитированными частицами

В мазках костного мозга нередко встречаются макрофаги, окруженные эритробластами, плазмоцитами, редко — лимфоцитами. Это так называемые гемопоэтические островки (иногда называемые гематогонами), соответственно, эритрокариоцитарные, плазмоцитарные или лимфоцитарные, что отражает сложные межклеточные взаимоотношениия (рис. 142).

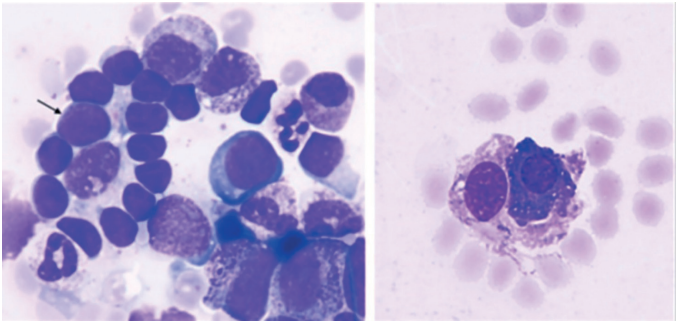
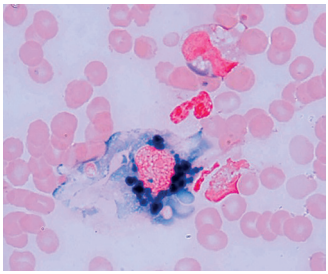


Рис. 142. Мазки костного мозга. Лимфоцитарный островок (стрелка показывает на гематогон). На правом рисунке макрофаг как бы «обнимает» плазмоцит — это «интимная» беседа иммунных клеток на клеточном уровне



Участие макрофагов в регуляции обмена железа нередко сопровождается накоплением в их цитоплазме железосодержащих частиц, из-за чего такие клетки иногда называют «сидерофагами». В трудных случаях для дифференцировки сидероахрестических анемий и железодефицитной анемии (ЖДА)

Рис.143. Костный мозг (окраска по Перлсу, ×1000). Положительная окраска макрофагов на гемосидерин позволяет исключить дефицита железа

используется окраска мазков костного мозга на гемосидерин (рис. 134). При ЖДА реакция на гемосидерин отсутствует как в макрофагах, так и внеклеточно.

При активной перестройке костных балок в мазках встречаются специализированные макрофаги — остеокласты. В типичных случаях у них отмечается разный цвет цитоплазмы и степень гранулярности в полярных областях клетки. Количество ядер в остеобластах различное, иногда встречаются даже одноядерные клетки (рис. 144).

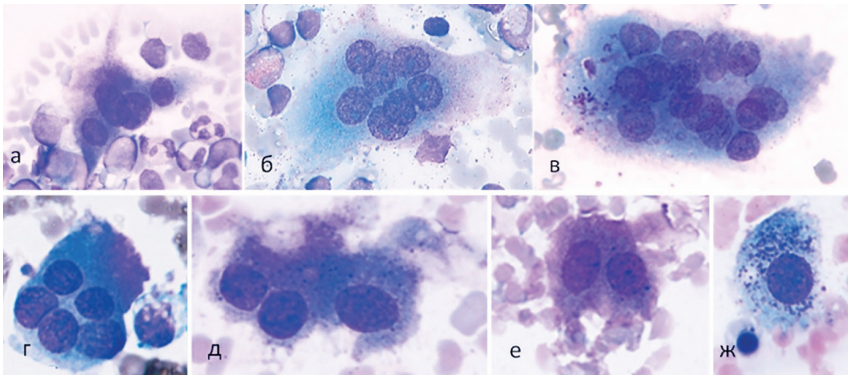


Рис. 144. Галерея портретов остеокластов: а, б, г, д — типичная полярность расположения зернистости, отражающаяся в цвете цитоплазмы; а, б, в, г — многоядерные остеокласты; д — трехядерный; е — двуядерный; ж — одноядерный

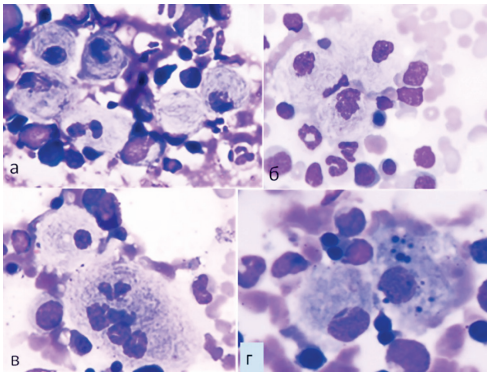


Рис. 145. Костный мозг (окраска по Романовскому, ×1000). Морфологическое разнообразие макрофагов в мазках костного мозга при болезни Гоше

Макрофаги нередко встречаются при болезнях накопления, что имеет определенное диагностическое значение. Проще всего распознаются типичные макрофаги при болезни Гоше (рис. 145). Обычно они имеют характерную слоистую цитоплазму, напоминающую мятую папиросную бумагу, но могут встречаться клетки типа ординарных макрофагов и разнообраз-

ные переходные формы. Эти клетки содержат гликоцереброзиды и дают положительную PAS-реакцию. Как правило, они одноядерные, но встречаются двух-, трехядерные и редко — многоядерные. Как и большинство очень крупных клеток, клетки Гоше находятся преимущественно в конце мазка, где легко обнаруживаются под малым увеличением.

Относительный дефицит глюкоцереброзидазы при большом клеточном обороте иногда приводит к появлению этих клеток при ХМЛ. Их называют псевдо-Гоше клетками, хотя морфологически и по своей сути они не отличаются от клеток при болезни Гоше. При современной терапии это практически не встречается.

При другом заболевании — антракозе — в мазках-отпечатках лимфоузлов средостения часто обнаруживаются макрофаги, содержащие черные частицы — угольную пыль (рис. 146). Иногда их называют антракоидными клетками (от лат. от anthrax — уголь).

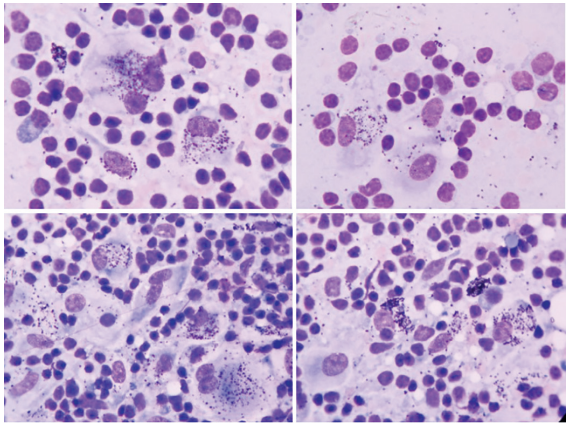


Рис. 146. Мазок-отпечаток биопсированного лимфоузла средостения. На фоне лимфоцитов много макрофагов, содержащих мельчайшие частицы угля

Макрофагальная реакция является типичной для воспалительного процесса, в частности, при инфекциях (рис. 147–148).

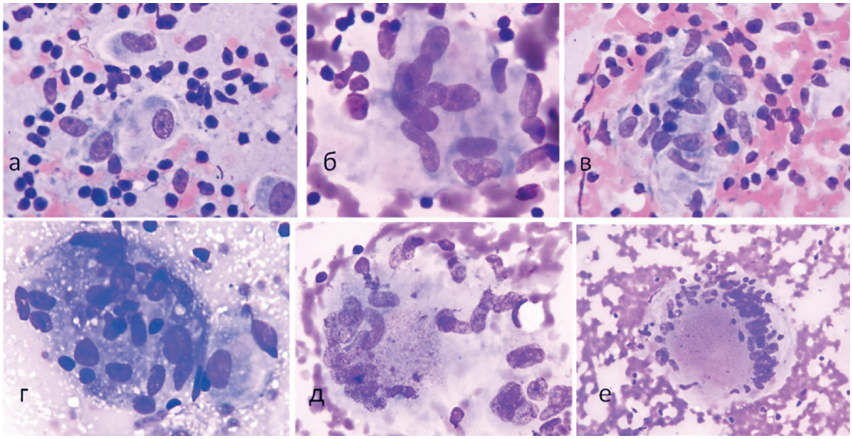


Рис. 147. Мазки-отпечатки биопсированных лимфоузлов: а — отдельно лежащие эпителиоидные клетки; б, в, г — одно- и многоядерные эпителиоидные клетки; д — эпителиоидные клетки и гигантская многоядерная клетка Пирогова-Ланганса. Все это — цитологические признаки гранулематозного воспаления. Некоторые из этих картин могут наблюдаться как при саркоидозе, так и при туберкулезе. Всегда надо проводить окраску по Граму и Цилю-Нильсену

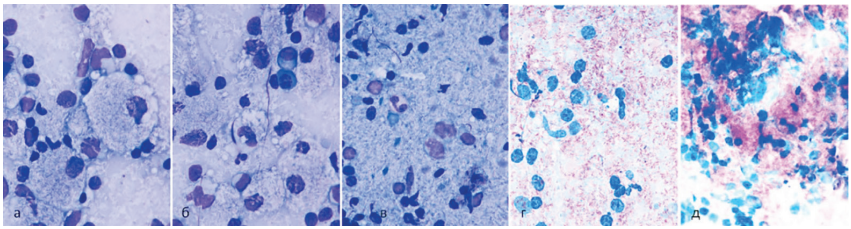


Рис. 148. ВИЧ-инфекция, ассоциированная с генерализованным туберкулезным лимфаденитом. Мазок-отпечаток биопсированного лимфоузла. Некоторые макрофаги напоминают клетки Гоше, видны мелкие палочковидные образования, предположительно — бактерии. Справа — окраска по Цилю-Нильсену, многочисленные кислотоустойчивые микобактерии

Глава 8.
МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ КЛЕТОК МЕГАКАРИОЦИТАРНО-ТРОМБОЦИТАРНОГО ДИФФЕРОНА

В связи с изменяющимися представлениями о моделях кроветворения, в настоящее время признаны различные варианты клеток-предшественников миелопоэза (рис. 149). В соответствии с предложенной новой моделью гемопоэза [50] популяции стволовых кроветворных клеток гетерогенны, в частности, мегакариоциты могут развиваться из клеток-предшественников, минуя промежуточные стадии.

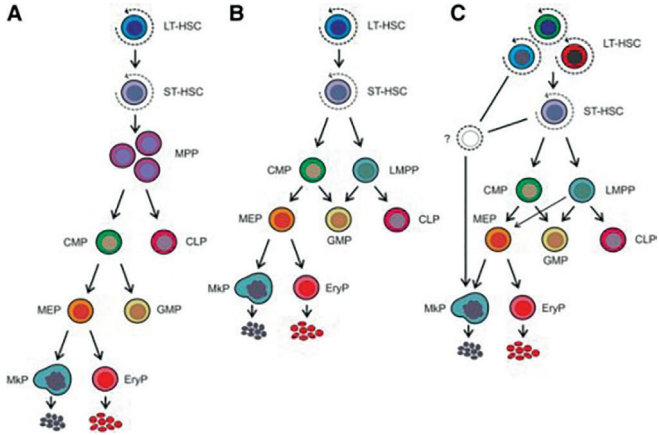


Рис. 149. Модели гемопоэтической иерархии [50]. А — классическая модель гемопоэтической иерархии со строгим разделением между миелоидными и лимфоидными ветвями; В — альтернативная модель, включающая идентификацию лимфоидно-миелоидных предшественников [34]; С — новая модель, в которой популяции стволовых кроветворных клеток гетерогенны, в частности, мегакариоциты могут развиваться из клеток-предшественников, минуя промежуточные стадии

Морфологически различают три уровня мегакариоцитопоэза: мегакариобласты, промегакариоциты и мегакариоциты.

Мегакариобласты в окрашенном мазке костного мозга иногда достаточно надежно отличаются от других бластов (хроматин ядра почти гомогенный, но довольно плотный, нуклеолы встре-

чаются редко, цитоплазма узкая, часто содержит тромбоциты, которые выступают по контуру (рис. 150). По мере созревания клетки мегакариоцитарного ростка увеличивают плоидность ядер, которые приобретают различную многодольчатую или сегментированную форму, очень редко — правильную круглую или овальную. Многоядерность является исключением.

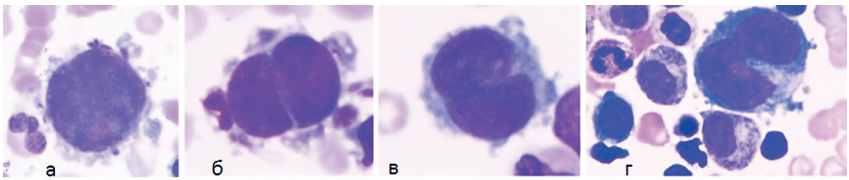


Рис. 150. Костный мозг: а — клетка по морфологическим особенностям соответствует мегакариобласту; б, в, г — три промегакариоцита. Они имеют двудольное ядро и окружены голубыми пластинками и зрелыми тромбоцитами

Некоторые морфологические особенности мегакариобластов, мегакариоцитов и тромбоцитов обнаруживаются при гемобластозах (рис. 151–153).

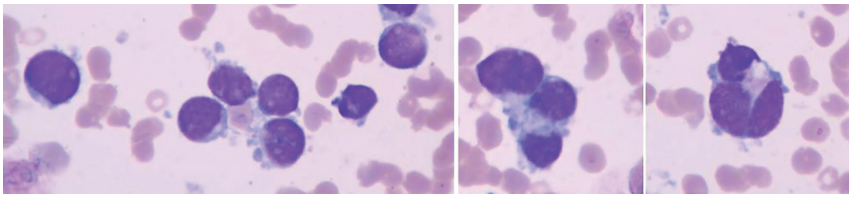


Рис. 151. Мегакариобласты при ОМЛ М7 (образуют голубые пластинки): на среднем рисунке, вероятно, агрегат из трех мегакариобластов и тромбоцитов; на правом — трехядерный мегакариобласт

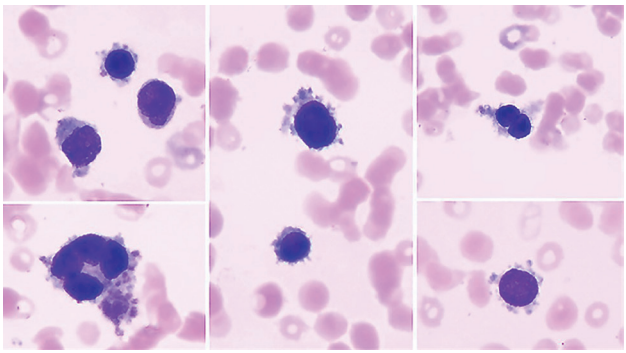


Рис. 152. Врожденный ОМЛ М7. Мегакариобласты и мегакариоциты — преимущественно микроформы

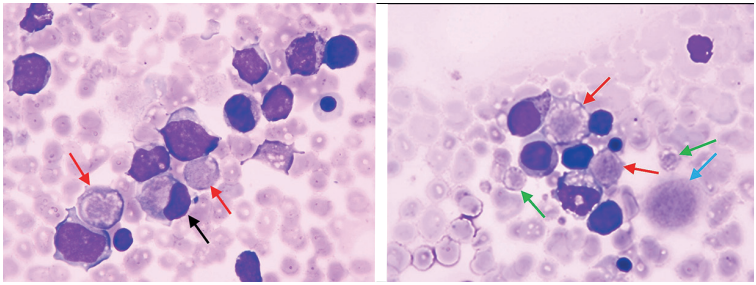


Рис. 153. Врожденный Даун-лейкоз. Мегакариобласты и микро-МКЦ (с бобовидным ядром, помечен черной стрелкой). Тромбоциты гигантские (красные стрелки) и крупные (зеленые стрелки). Синей стрелкой помечен гигантский тромбоцит без четкой мембраны

Промегакариоциты обычно имеют двудольное ядро и часто окружены голубыми пластинками и адгезированными зрелыми тромбоцитами (рис. 150).

Мегакариоциты (МКЦ). По мере формирования кровяных пластинок псевдоподиеподобные выпячивания цитоплазмы МКЦ проникают через эндотелиальную выстилку синусоидов и смываются потоком крови. Сегментированное ядро способствует выходу некоторых МКЦ из паренхимы костного мозга в кровеносные синусоиды. С потоком венозной крови они попадают в легкие, где задерживаются (большой размер не дает возможности пройти через капилляры и артериоло-венулярные шунты) и продолжают образование тромбоцитов. Есть сведения, что половина циркулирующих тромбоцитов поступает в кровь из легких, а не из костного мозга.

Так как большинство МКЦ — это наиболее крупные клетки миелопоэза (за исключением макрофагов), количество их можно подсчитать в камере Фукса-Розенталя и сделать пересчет на абсолютное содержание в единице объема аспирата. Но точность такого подсчета страдает именно из-за большого размера этих клеток: часто они не попадают в камеру, хотя она имеет достаточно большую глубину — 100 мкм. Кроме того, микроформы в камере трудно отличить от клеток других ростков. Поэтому количество МКЦ надо дополнительно оценивать и по мазкам костномозгового аспирата.

Для предварительной оценки мазок аспирата надо просматривать под малым увеличением, особенно его края и усики, где они встречаются чаще. Форма и размеры МКЦ в мазках костного мозга разнообразны (рис. 154).

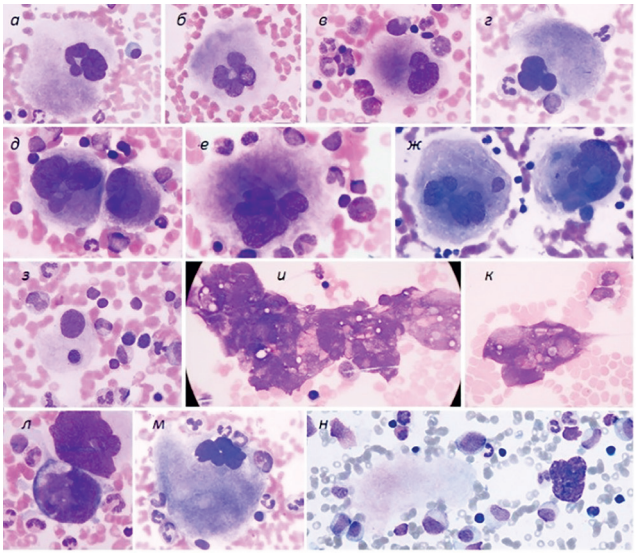


Рис. 154. Мегакариоциты в мазках костного мозга: а-ж, м — варианты нормальных МКЦ; з — мегакариоцит с ядром правильной формы, в норме такие ядра — большая редкость; и, к — костный мозг молодого пациента с ВИЧ-инфекцией, количество мегакариоцитов в мазке достаточное, но все они разрушены во время приготовления мазка, стойкая тромбоцитопения — 30 тыс./мкл с небольшими колебаниями и слабо выраженным геморрагическим синдромом; л — два мегакариоцита, верхний со скудной цитоплазмой без четких контуров, нижний — вакуолизированный; н — ядро мегакариоцита находится на некотором расстоянии от его цитоплазмы вследствие повреждения клетки во время приготовления мазка

Цвет и структура цитоплазмы МКЦ зависят в основном от количества и распределения зернистости. Иногда в цитоплазме отчетливо видны сформированные тромбоциты (рис. 155). Ядра МКЦ очень разнообразны по форме. Можно считать справедливым выражение «Чем более правильная форма ядра МКЦ, тем более вероятно, что речь идет о патологии». Большое количество МКЦ с правильной круглой формой ядра характерно для синдрома 5q-. Увеличение размера ядер МКЦ происходит путем эндомитоза (рис. 156). Мегака-

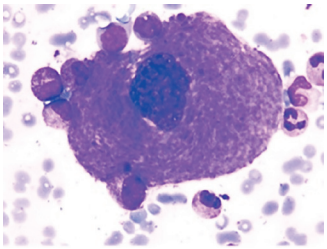


Рис. 155. Мегакариоцит, цитоплазма которого состоит из плотно расположенных, полностью сформированных тромбоцитов

риоциты могут разрушаться во время приготовления мазка, тогда видны голые ядра, часто расплющенные.

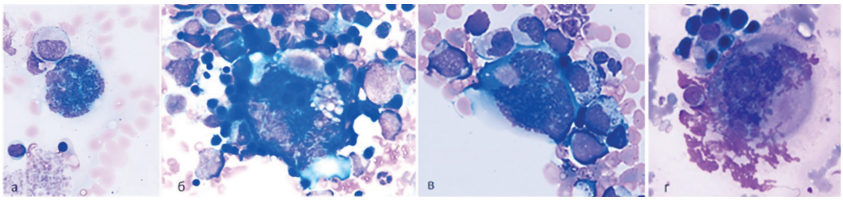


Рис. 156. Митозы мегакариоцитов: а, б — видны гомогенные участки хроматина, по-видимому, не все доли ядра вовлечены в митоз; б — цитоплазма вакуолизирована, выше ядра формируется гигантский тромбоцит; в — в базофильной беззернистой цитоплазме виден один гигантский тромбоцит; г — мегакариоцит поврежден во время приготовления мазка, часть хромосом находится вне клетки; б и г — фрагменты мазков, сделанных после полихимиотерапии ОЛЛ

Идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура (болезнь Верльгофа) — это аутоиммунное гематологическое заболевание, характеризующееся тромбоцитопенией и кровоточивостью. Антитромбоцитарные антитела не только разрушают тромбоциты, но также могут поражать мегакариоциты костного мозга [51]. В препаратах костного мозга количество мегакариоцитов не изменено, они нередко располагаются кластерами, но отшнуровка тромбоцитов угнетена (рис. 157–158).

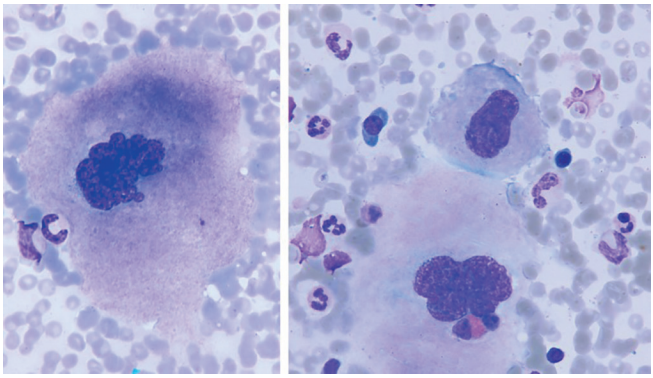


Рис. 157. Костный мозг (окраска азур-эозин, ×1000). Иммунная тромбоцитопеническая пурпура: слева — МКЦ с группировкой гранул (будущие тромбоциты); справа вверху — МКЦ, образующий голубые пластинки, внизу — МКЦ с очень мелкой зернистостью со слабой группировкой; эозинофил, расположенный рядом с ядром МКЦ, оказался там, вероятно, в ходе эмпериполеза, т.к. имеется halo — светлый, хотя и неотчетливый ободок вокруг этой клетки

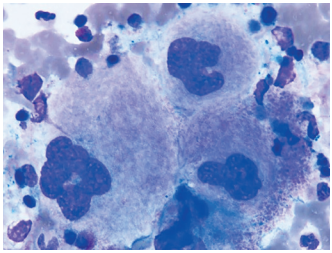


Рис. 158. Костный мозг (окраска по Романовсокму, ×1000). Группа из четырех МКЦ в мазке костного мозга — плотный кластер

К числу экзотических случаев можно отнести описанное поражение мегакариоцитов лейшманиями, сопровождающееся дисплазией этих клеток (рис. 159).

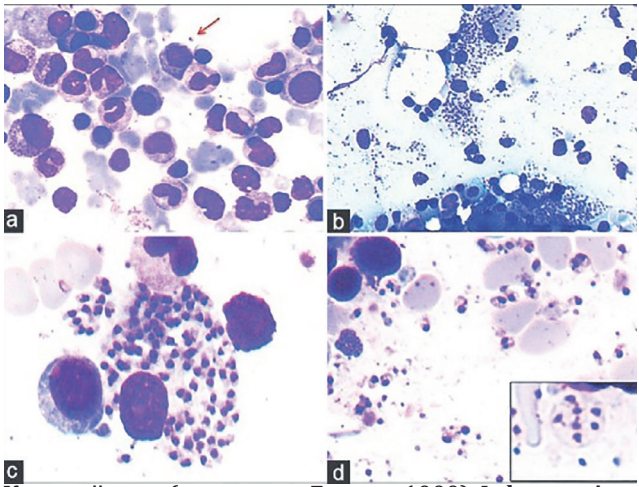
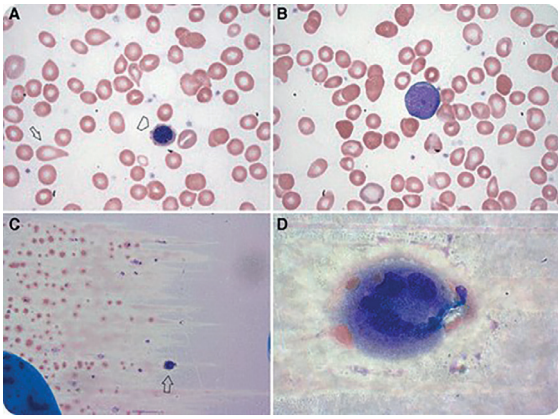


Рис. 159. Костный мозг (окраска по Гимзе, ×1000). L.donovani в мегакариоцитах и внеклеточно расположенные, разная степень паразитемии [52]



Мегакариоциты могут быть обнаружены и в мазках крови, что продемонстрировано на рисунке 160 и сообщением [53].

Рис. 160. Мазок периферической крови (окраска Райту-Гимзе). A, B — обзорный вид, ув. ×1000; C — ув. × 40; D — ув. × 1000. Описание в тексте

У женщины 70 лет с эссенциальной тромбоцитемией, прогрессирующей в миелофиброз, в анализе крови умеренная нормоцитарная анемия (82 г/л), лейкопения (2.2×10^9/л) и нормальное содержание тромбоцитов. В мазке крови, полученном обычным способом, — лейкоэритробласты, полихромазия. Встречаются дакриоциты. Сдвиг лейкоформулы влево, единичные бласты. В зоне «метелочки» была отмечена крупная клетка с многолопастным ядром, с обильной мелкозернистой цитоплазмой, морфологически соответствующая зрелому мегакариоциту. Клиническое значение этого факта неясно. Можно отметить, что лейкоэритробластоз иногда наблюдается при остеомиелофиброзе или метастазах в костный мозг. Крайне необычное обнаружение МКЦ в мазке периферической крови напоминает нам о важности исследования края мазка в виде «метелочки», поскольку здесь могут быть обнаружены крупные клетки, имеющие диагностическое значение, такие как бласты, крупные атипичные лимфоциты, мегакариоциты [51].

Тромбоциты формируются в цитоплазме мегакариоцитов: гранулы группируются, группы ограничиваются мембраной, она покрывается гликокаликсом, который обеспечивает отделение тромбоцитов друг от друга.

В мазке крови диаметр тромбоцитов обычно колеблется в диапазоне 2–4 мкм. Нормальные пределы анизоцитоза тромбоцитов небольшие, что не исключает наличия как у здоровых людей, так и при любой патологии единичных более крупных и более мелких форм. Но большое количество аномально мелких или крупных тромбоцитов свидетельствует о патологии, не обязательно относящейся к системе крови (рис. 161–162).

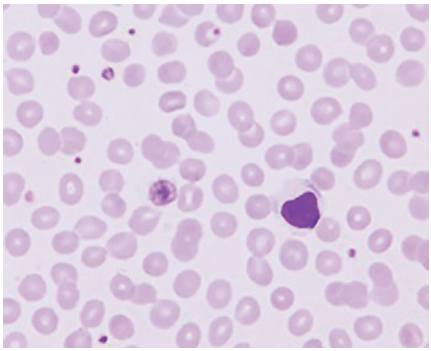


Рис. 161. Затяжная пневмония. Тромбоцитоз. Анизоцитоз тромбоцитов, диаметр одного из них соответствует диаметру эритроцитов

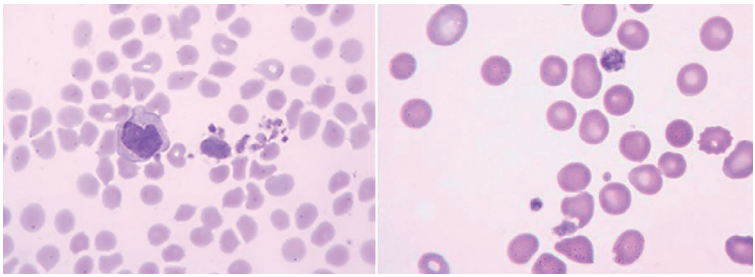


Рис. 162. Одиночные гигантские тромбоциты: слева — семейная сфероцитарная анемия; справа — мегалобластная анемия

В мазках крови часто обнаруживаются агрегаты тромбоцитов, в частности при тромбоцитозе (рис. 163). Но их можно увидеть и при нормальном количестве тромбоцитов, и при тромбоцитопении.

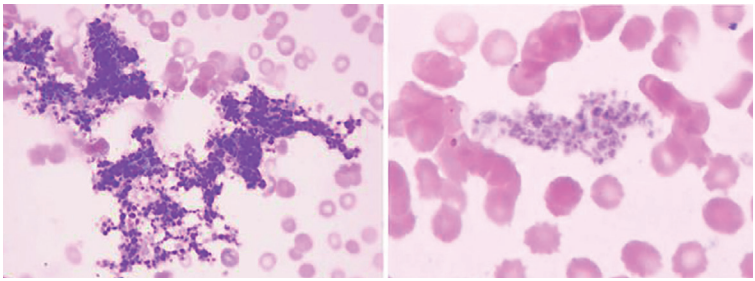


Рис. 163. Агрегаты тромбоцитов в мазках костного мозга (слева) и крови (справа)

Когда в клиническом анализе крови, выполненном с помощью гематологического анализатора, обнаруживается тромбоцитопения, обязателен просмотр мазка, что позволяет исключить ошибку. Если в мазке много агрегатов тромбоцитов, надо повторить исследование не со стандартным раствором, содержащим соль ЭДТА, а с цитратом. Дело в том, что у некоторых людей стандартные растворы антикоагулянтов вызывают агрегацию тромбоцитов, которые по этой причине не регистрируются анализатором. Прибор в таких случаях дает подсказку «PLT clumps». Для исключения ЭДТА-индуцированной агрегации рекомендуется использовать специальные пробирки «Псевдоагрегация».

Исследование мазка крови под микроскопом дает возможность обнаружить и редкий феномен — сателлитизм тромбо-

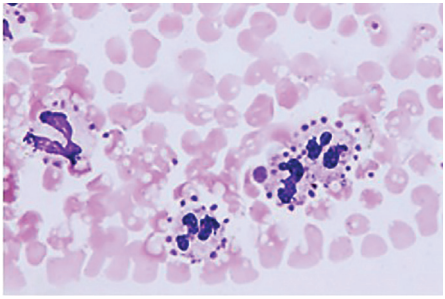


Рис. 164. Саттелитизм тромбоцитов. Тромбоциты, прилипшие к нейтрофилам, не попадают в счет, что симулирует тромбоцитопению

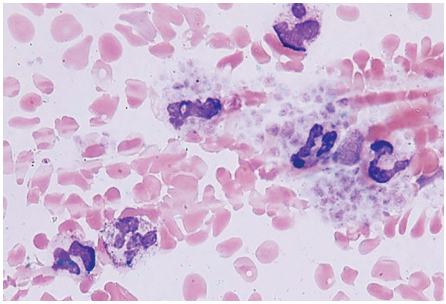


Рис. 165. Несколько нитей фибрина, вдоль которых расположены тромбоциты, одиночные и в виде агрегатов

цитов, при котором анализатор также определяет тромбоцитопению (рис. 164). Анализаторы клеток могут зафиксировать низкое содержание тромбоцитов при макротромбоцитозе, поэтому важно оценивать средний объем тромбоцита (MPV) и тромбоцитарную гистограмму.

При гиперкоагуляции или в процессе продолжительной процедуры получения аспирата костного мозга начинается его свертывание, и во время приготовления мазка на стекле образуются нити фибрина, к которым прилипают клетки крови (рис. 165). Иногда нити фибрина почти не видны, они определяются лишь по линейному расположению тромбоцитов и других клеток крови.

Аномалия Мея-Хегглина — наследственная аномалия нейтрофилов и тромбоцитов. О ней упоминалось выше, в описании патологии гранулоцитов. В данном разделе рассмотрены особенности тромбоцитов. Они увеличены в размере и часто уменьшены в количестве (рис. 166), может быть нарушение коллаген-индуцированной агрегации. Тенденция к кровоточивости обусловлена в основном не качеством, а количеством тромбоцитов.

Гигантотромбоцитарная тромбоцитопатия характеризуется появлением в крови огромных тромбоцитов (рис. 167) с нарушенной функцией.

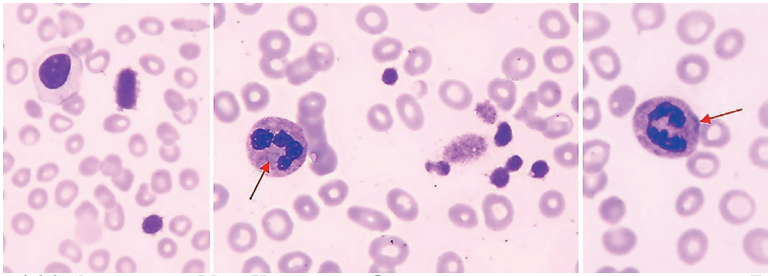


Рис. 166. Аномалия Мея-Хегглина. Стрелки показывают на тельце Деле: на правом рисунке — характерное расположение у мембраны клетки; на среднем рисунке — едва заметное очень бледное тельце Деле

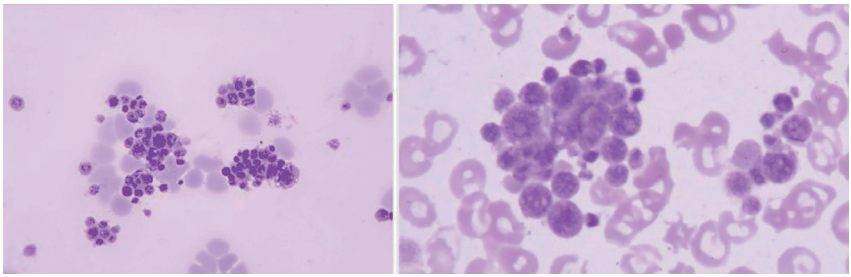


Рис. 167. ЖДА вследствие гиперполименореи, обусловленной тромбоцитопатией с гигантскими тромбоцитами

Большое количество мегакариоцитов различной степени дифференцировки, но преимущественно зрелых встречается в аспирате костного мозга нередко, за исключением острых лейкозов и аплазии костного мозга. В ряде случаев они располагаются группами по 3–5 и больше. Это не имеет связи с какой-то определенной патологией и встречается при идиопатической тромбоцитопенической пурпуре (ИТП), лимфоме Ходжкина, МПН, при регенерации миелопоэтической ткани после полихимиотерапии.

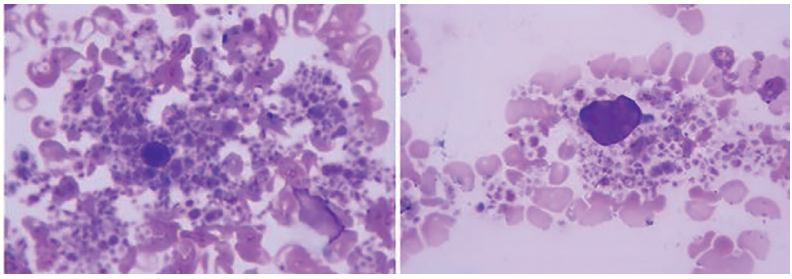


Рис. 168. Периферическая кровь пациента с ПМФ после спленэктомии. Микро-МКЦ и большие агрегаты тромбоцитов в конце мазка крови

Глава 9.
ЦИТОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КОСТНОГО МОЗГА ПРИ РЕДКИХ И НЕОБЫЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

В данной главе предствлено несколько случаев, которые не часто встречались в нашей практике или в научных описаниях.

Гемофагоцитарный синдром, или гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз (ГЛГ), представляет собой группу заболеваний, морфологическим субстратом которых являются преимущественно гистиоциты, а лимфоциты играют важную патогенетическую роль в развитии неконтролируемой активации иммунного ответа. Считается, что ГЛГ встречается в основном у детей с частотой заболеваемости 1 случай на 800000 в год. Уровень заболеваемости у взрослых точно неизвестен, но вполне вероятно, что многие необъяснимые тяжелобольные взрослые пациенты с полиорганной недостаточностью и высокой температурой имеют ГЛГ. Он может проявляться в виде лихорадки и панцитопении, увеличением и дисфункцией печени и селезенки. Это не болезнь, а скорее следствие неэффективного иммунного ответа [54].

Макрофаги при ГЛГ содержат в цитоплазме неизмененные клетки крови (гемофагоцитоз). Нахождение таких клеток в мазках костного мозга, особенно при большом их количестве, говорит в пользу ГЛГ, но их отсутствие не исключает этой патологии. Нередко макрофаги при данной патологии содержат в цитоплазме, кроме неизмененных клеток крови, остатки погибших клеток. ГЛГ встречается при тяжелых инфекционных и опухолевых, включая гемобластозы, заболеваниях (рис. 169–170).

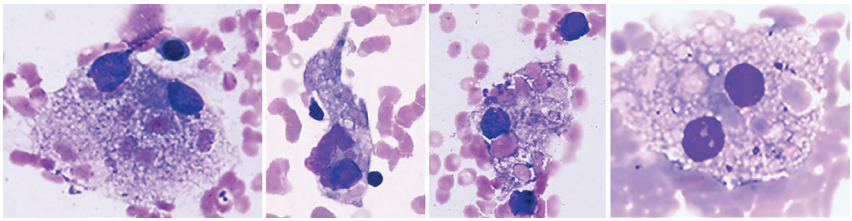


Рис. 169. Гемофагоцитарный синдром. Неизмененные эритроциты в макрофагах

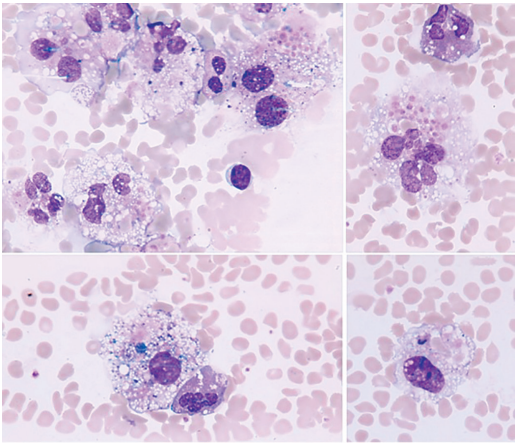


Рис. 170. Костный мозг (окраска по Романовскому, ×1000). ГЛС при ОМЛ М4Эо в период индукционной химиотерапии. Макрофаги содержат эритроциты и (или) тромбоциты, а также остатки разрушенных клеток

Явление гемофагоциоза само по себе не является аналогом ГЛГ. К лабораторным критериям ГЛГ относят цитопению более чем в двух кроветворных линиях; гипертриглицеидемию и/или гиперфибриногенемию; гиперферритинемию; увеличение уровня растворимых рецепторов CD25 (рецепторы ИЛ-2); снижение активности НК-клеток; гемофагоцитоз в костном мозге, лимфатических узлах, ликворе.

Синусный гистиоцитоз с массивной лимфаденопатией (болезнь Розаи-Дорфмана). Редкое доброкачественное заболевание, чаще встречающееся у детей и молодых пациентов. Наблюдается существенное увеличение лимфоузлов шейно-подчелюстных областей без общих клинических симптомов. Возможно увели-

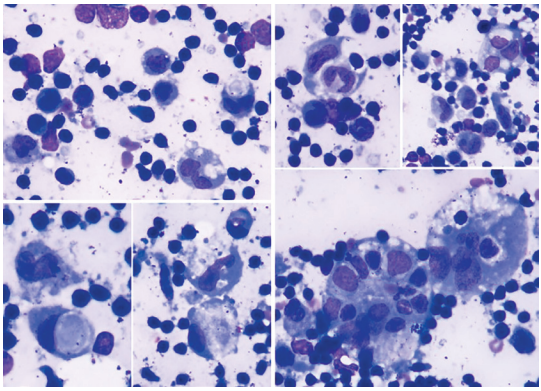


Рис. 171. Лимфатический узел (окраска по Романовскому, ×1000). Болезнь Розаи-Дорфмана. На фоне лимфоцитов большое количество клеток системы фагоцитирующих мононуклеаров

чение печени и селезенки, поражение кожи. Диагностируется с помощью гистологического исследования. В мазках-отпечатках с разреза удаленного лимфоузла на лимфоцитарном фоне имеется большое количество гистиоцитов и макрофагов разных размеров, иногда очень крупных с большими ядрами (рис. 171).

Острый лейкоз. При этом не слишком редком заболевании можно встретить следующие особенности лейкозных клеток при варианте ОМЛ— М2 (рис. 172–173): бласты содержат тельца, напоминающие те, что характерны для аномалии Чедиака-Хигаси.

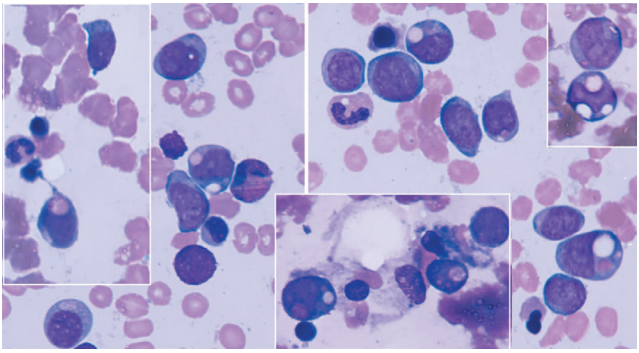


Рис. 172. ОМЛ-М2. Наличие Хигаси-подобных телец в миелобластах

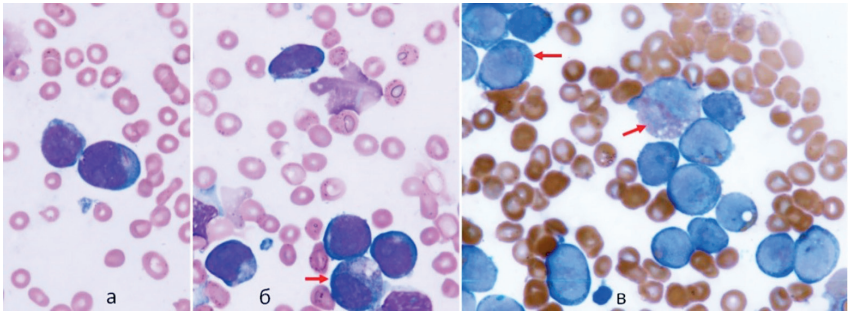


Рис. 173. ОМЛ М2: а — в одном из бластов видна палочка Ауэра; б — миелобласты с палочками Ауэра и Хигаси-подобными тельцами (стрелка); в — в отличие от истинных телец Хигаси реакция на пероксидазу отрицательна, в то время как в палочках Ауэра достаточно яркая

Хронический нейтрофильный лейкоз. Очень редкое заболевание с довольно агрессивным течением, диагноз которого основан на стойком лейкоцитозе >25 × 10^3/мкл, при этом уровень моноцитов <1 × 10^3/мкл [55]. В костном мозге эритроидная гиперплазия (рис. 173).

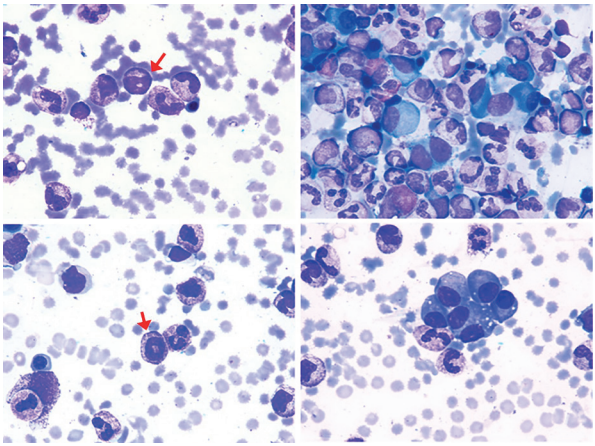


Рис. 174. ХНЛ. Разные поля зрения мазка костного мозга: слева — преобладают нейтрофилы, у некоторых — кольцевые ядра; справа — много плазмоцитов

Описан вариант ХНЛ с моноцитозом (рис. 174), хотя окончательно не доказано, является моноцитоз в данном случае особенностью нозологии или является реактивным, например, отражает активацию туберкулеза [55].

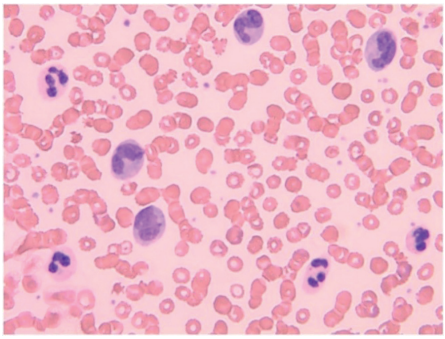


Рис. 175. Периферическая кровь (окраска по Гимза, ×1000). ХНЛ. Нейтрофилы и моноциты

К достаточно экзотическим находкам можно отнести обнаружение мегакариоцитов в плевральных выпотах (рис. 175). Это встречается очень редко: авторы отмечают, что за 20 лет было исследовано 10846 выпотов, и только в 9 образцах плевральной жидкости (0,08%) были выявлены эти клетки [56].

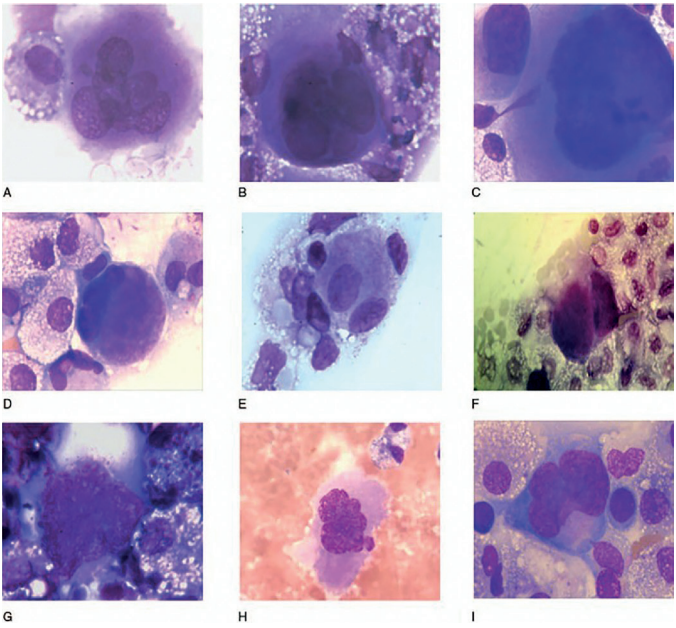


Рис. 176. Мегакариоциты в плевральной жидкости [56]

К не менее экзотическим находкам можно отнести обнаружение опухолевых негемопоэтических клеток в крови пациентки с раком моложной железы (рис. 176). Положительная реакция на циткератан позволили доказать принадлежность этих клеток к опухолевым, хотя они напоминали вакуолизированные лимфобласты [57].

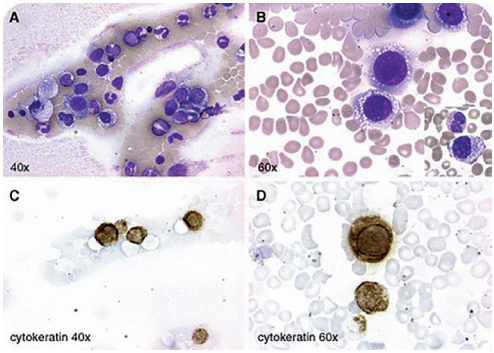


Рис. 177. Периферическая кровь. Окраска по Гимзе и на цитокератин. Опухолевые клетки, цитокератин-позитивные

Нечастой находкой в мазках крови являются и микроорганизмы, некоторые из которых представлены на рисунке 177.

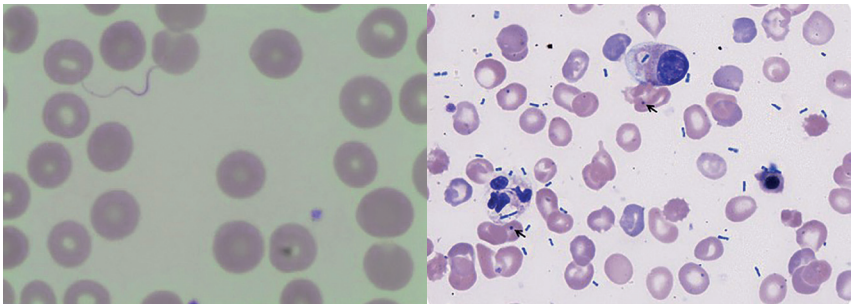


Рис. 178. Периферическая кровь. А — Подозрительный микроорганизм, похожий на боррелию, позднее идентифицированный как мужская микрогамета малярийного плазмодия [58]; Б — Klebsiella pneumonia у пациента с сепсисом, врожденной ГА (дефицит пируваткиназы), асплением. В этом же мазке крови анизоцитоз, пойкилоцитоз, полихромазия. Диагноз подтвержден положительной культурой [59]

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В начале своего развития лабораторная гематология занималась подсчетом клеток при помощи счетной камеры и микроскопа. К настоящему времени в лабораториях появились автоматизированные аналитические системы, которые существенно расширили возможности исследования крови и костного мозга. Это повысило качество диагностики не только болезней крови, но и самых различных заболеваний. Кроме того, разработаны и внедрены в широкую онкогематологическую практику высокотехнологичные методы визуализации и изучения свойств клеток крови — цитохимическая диагностика, иммунофенотипирование, молекулярно-биологические и цитогенетические методы, цифровизация изображения и другие. Однако несмотря на это, стандартный цитологический анализ клеток крови и костного мозга методом светооптической микроскопии в клинической лабораторной практике остается актуальным.

Анализ мазка периферической крови — это жизненно важный рутинный тест, который позволяет оценивать различные аспекты здоровья человека. Исследование биоптата / аспирата костного мозга используется для диагностики и мониторинга множества патологических процессов, включая гематологические злокачественные новообразования, негематологические злокачественные новообразования, инфекции и метаболические болезни. Бесспорно, что эти технологии будут развиваться как по пути автоматизации (появления новых анализаторов с новыми опциями), так и по пути развития икусственного интеллекта на основе нейронных сетей, что повысит точность классификации клеток и выявления их морфологических аномалий [60]. Вместе с тем очевидно, что будущее КДЛ за специалистами, которые способны к комплексной оценке лабораторных данных, их интерпретации не только в целях диагностики, но и для прогнозирования, мониторирования, профилактики.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АИГА – аутоиммунная гемолитическая анемия
ГА – гемолитические анемии
ГЛГ – гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз
ГФС – гемофагоцитарный синдром
ЖДА – железодефицитная анемия
ИТП – иммунная тромбоцитопеническая пурпура
КДЛ – клинико-диагностическая даборатория
МДС – миелодиспластический синдром
МКЦ – мегакариоцит
МПН – миелопролиферативное новообразование
НК – натуральные киллеры
ОЛЛ – острый лимфобластный лейкоз
ОМЛ – острый миелобластный лейкоз
ПМФ – первичный миелофиброз
ТК – тучные клетки
ПККА – парциальная красноклеточная аплазия
ХМЛ – хронический миелолейкоз
ХММЛ – хронический миеломоноцитарный лейкоз
ХНЛ – хронический нейтрофильный лейкоз
ХЛЛ – хронический лимфолейкоз
ICSH – Международный союз по стандартизации в гематологии
MCH – среднее содержание гемоглобина
MCV – средний объем эритроцитов,
RDW – ширина распределения эритроцитов

ЛИТЕРАТУРА

1. Präanalytik in der Hämatologie — Fallen und Tücken [Pitfalls and challenges of the preanalytical phase in hematology / A. Méndez, M. Bargetzi, A. Huber, N. Cantoni // Ther Umsch. – 2013. – Vol. 70 (8). – P. 449-55.

2. Purpose and Criteria for Blood Smear Scan, Blood Smear Examination, and Blood Smear Review / G. Gulati, J. Song, A. D. Florea, J. Gong // Ann Lab Med. – 2013. – Vol. 33 (1). – P. 1–7.

3. Луговская, С. А. Морфология клеток костного мозга в норме и патологии / С. А. Луговская, М. Е. Почтарь. – М.-Тверь : Издательство «Триада», 2018. – 246 с.

4. International Council for Standardization In Hematology. ICSH guidelines for the standardization of bone marrow specimens and reports / S. H. Lee, W. N. Erber, A. Porwit [et al.] // Int J Lab Hematol. – 2008. – Vol. 30 (5). – P. 349-64.

5. A comparison of two techniques of preparing bone marrow aspirate slides / A. Aleem, K. Alsaleh, M. Aljabry [et al.] // J Pak Med Assoc. – 2016. – Vol. 66 (5). – P. 528-7.

6. Lewandowski, K. Microscopic examination of bone marrow aspirates in malignant disorders of haematopoiesis — a comparison of two slide preparation techniques / K. Lewandowski, A. Complak, A. Hellmann // Ann Hematol. – 2012. – Vol. 91 (4). – P. 497-505.

7. Льюис, С. М. Практическая и лабораторная гематология / С. М. Льюис, Б. Бэйн, И. Бэйтс ; пер. с англ. под редакцией А. Г. Румянцева. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 672 с.

8. Yoon, K. H. Peripheral blood smear contamination with Helicosporium fungi resembling microfilaria // Ann Lab Med. – 2015. – Vol. 35 (1). – P. 169-71.

9. Chernwipasakul, O. Blood Smear in a Patient With Very Severe Hypertriglyceridemia / O. Chernwipasakul, C. Sriphrapradang // J Endocr Soc. – 2017. –– Vol. 1 (4). – P. 283-284.

10. Gupta, V. Assessment of red blood cell parameters and peripheral smear at different temperatures in case of cold agglutination disease // Ann Med Health Sci Res. – 2014. – Vol. 4 (1). – P. S25-8.

11. ICSH recommendations for the standardization of nomenclature and grading of peripheral blood cell morphological features / L. Palmer, C. Briggs, S. McFadden [et al.] // Int J Lab Hematol. – 2015. – Vol. 37 (3). – P. 287-303.

12. Barminko, J. Development and differentiation of the erythroid lineage in mammals / J. Barminko, B. Reinholt, M. H. Baron // Dev Comp Immunol. – 2016. – № 58. – 18-29.

13. Erythroblastic Island Macrophages Shape Normal Erythropoiesis and Drive Associated Disorders in Erythroid Hematopoietic Diseases / W. Li, R. Guo, Y. Song, Z. Jiang // Front Cell Dev Biol. – 2021. – Vol. 8. – P. 613885.

14. Jacobsen, R. Macrophages and regulation of erythropoiesis / R. N. Jacobsen, A. C. Perkins, J. P. Levesque // Curr Opin Hematol. – 2015. – Vol. 22 (3). – P. 212-9.

15. Соснин, Д. Ю. Оценка морфологии эритроцитов: внутриэритроцитарные включения / Д. Ю. Соснин, В. В. Базарный, А. В. Васильева // Справочник заведующего КДЛ. – 2021. – № 12. – С. 22-39.

16. Луговская, С. А. Основные исследования в лабораторной гематологии : В кн.: Клиническая лабораторная диагностика : национальное руководство / С. А. Луговская, М. Е. Почтарь, В. М. Погорелов. – Т.1. – С. 492-519.

17. Базарный, В. В. Характеристика кроветворения у доноров крови / В. В. Базарный, Н. В. Гаренских // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2014. – № 3. – С.91-92.

18. Preoperative Red Cell Distribution Width and 30-day mortality in older patients undergoing non-cardiac surgery: a retrospective cohort observational study / H. R. Abdullah, Y. E. Sim, Y. T. Sim [et al.] // Sci Rep. – 2018. – Vol. 8 (1). – P. 6226.

19. Ai, L. Prognostic role of RDW in hematological malignancies: a systematic review and meta-analysis / L. Ai, S. Mu, Y. Hu // Cancer Cell Int. – 2018. – № 18. – P. 61.

20. High red cell distribution width at the time of ST segment elevation myocardial infarction is better at predicting diastolic than systolic left ventricular dysfunction: A single-center prospective cohort study / J. Ćatić, I. Jurin, M. Lucijanić [et al.] // Medicine (Baltimore). – 2018. – Vol. 97 (18). – P. e0601.

21. ICSH recommendations for identification, diagnostic value, and quantitation of schistocytes / G/ Zini, G. d'Onofrio, C. Briggs [et al.] // Int J Lab Hematol. – 2012. – Vol. 34 (2). – P. 107-16.

21. Mohandas, N. Inherited hemolytic anemia: a possessive beginner's guide // Hematology Am Soc Hematol Educ Program. – 2018. – Vol. 2018 (1). – P. 377-381.

22. Acquired Elliptocytosis as a Manifestation of Myelodysplastic Syndrome Associated with Deletion of Chromosome 20q / S. Manthri, N. K. Vasireddy, S. Bandaru, S. Pathak // Case Rep Hematol. – 2018. – Vol. 2018. – P. 6819172.

23. Yoo, E. G. Sitosterolemia: a review and update of pathophysiology, clinical spectrum, diagnosis, and management // Ann Pediatr Endocrinol Metab. – 2016. – Vol. 21 (1). – P. 7-14.

24. Thomas, B. Acquired «pyro»-poikilocytosis / B. Thomas, J. Perrin // Blood. – 2017. – Vol. 130 (25). – P. 2808.

25. Schapkaitz, E. The Clinical Significance of Schistocytes: A Prospective Evaluation of the International Council for Standardization in Hematology Schistocyte Guidelines / E. Schapkaitz, M. H. Mezgebe // Turk J Haematol. – 2017. – Vol. 34 (1). – P. 59-63.

26. Jamwal, M. Laboratory Approach to Hemolytic Anemia / M. Jamwal, P. Sharma, R. Das // Indian J Pediatr. – 2020. – Vol. 87 (1). – P. 66-74.

27. Hill, A. Autoimmune hemolytic anemia / A. Hill, Q. A. Hill // Hematology Am Soc Hematol Educ Program. – 2018. – Vol. 2018 (1). – P. 382-389.

28. Kalfa, T. A. Warm antibody autoimmune hemolytic anemia // Hematology Am Soc Hematol Educ Program. – 2016. – Vol. 2016 (1). – P. 690-697.

29. Bade, N. A. Unexpected babesiosis in a patient with worsening anemia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation / N. A. Bade, J. A. Yared // Blood. – 2016. – Vol. 128 (7). – P. 1019.

30. Santos, M. A. Babesiosis-Associated Warm Autoimmune Hemolytic Anemia / M. A. Santos, L. M. Jr. Tierney, R. Manesh // J Gen Intern Med. – 2020. – Vol. 35 (3). – P. 928-929.

31. Congenital dyserythropoietic anemias: molecular insights and diagnostic approach / A. Iolascon, H. Heimpel, A. Wahlin, H. Tamary // Blood. – 2013. – Vol. 122 (13). – P. 2162-6.

32. Means, R. T. Jr. Pure red cell aplasia // Hematology Am Soc Hematol Educ Program. – 2016. – Vol. 2016 (1). – P. 51-56.

33. Myeloid/lymphoid neoplasms with FGFR1 rearrangement / Strati P. [et al.] // Leuk Lymphoma. – 2018. – Vol. 59 (7). – P. 1672-1676.

34. Wuillème, S. Misleading acute promyelocytic leukemia morphology / S. Wuillème, Y. Le Bris // Blood. 2015. – Vol. 125 (24). – P. 3815.

35. Skeith, L. Abnormal chromatin clumping in myeloblasts / L. Skeith, A. Lee // Blood. – 2016. – Vol. 127 (21). – P. 2645.

36. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia / D. A. Arber, A. Orazi, R. Hasserjian [et al.] // Blood. – 2016. – Vol. 127 (20). – P. 2391-405.

37. Schindhelm, R. K. Internuclear Bridging of Erythroid Precursors in the Peripheral Blood Smear of a Patient with Primary Myelofibrosis / R. K. Schindhelm, van M. M. Santen, A. C. van der Spek // Turk J Haematol. – 2017. – Vol. 34 (1). – P. 124-125.

38. Fatima, S. May hegglin anomaly: rare entity with review of literature // Indian J Hematol Blood Transfus. – 2012. – Vol. 28 (1). – P. 58-60.

39. Sandes, A. F. Abnormal mitosis and multiple micronucleation in myelodysplastic syndrome: a presage to a red cell tragedy? / A. F. Sandes, E. G. Rizzatti // Blood. – 2016. – Vol. 128 (19). – P. 2371.

40. Caocci, G. Erythroblast morphology in refractory anemia with ring sideroblasts and thrombocytosis / G. Caocci, G. La Nasa, B. J. Bain // Am J Hematol. – 2016. – Vol. 91 (10). – P. 1056.

41. Dahlin, J. S. Mast cell progenitors: origin, development and migration to tissues / J. S. Dahlin, J. Hallgren // Mol Immunol. – 2015. – Vol. 63 (1). – P. 9-17.

42. Adult Connective Tissue-Resident Mast Cells Originate from Late Erythro-Myeloid Progenitors / Z. Li, S. Liu, J. Xu [et al.] // Immunity. – 2018. – Vol. 49 (4). – P. 640-653.e5.

43. Systemic Mastocytosis: Multidisciplinary Approach / R. Zanotti, I. Tanasi, L. Crosera [et al.] // Mediterr J Hematol Infect Dis. – 2021. – Vol. 13 (1). – P. e2021068.

44. Kim, R. A «foamy» mastocytosis case / R. Kim, L. Lhermitte // Blood. – 2018. – Vol. 131 (5). – P. 586.

45. Olaiya, O. O. Frequent erythrophagocytosis by leukemic blasts in B-cell acute lymphoblastic leukemia / O. O. Olaiya, W. Li // Blood. – 2018. – Vol. 131 (19). – P. 2178.

46. Plasmacytoid lymphocytes in SARS-CoV-2 infection (Covid-19) / D. Foldes, R. Hinton, S. Arami, B. J. Bain // Am J Hematol. – 2020. – Vol. 95 (7). – P. 861-862.

47. Peripheral Blood Examination Findings in SARS-CoV-2 Infection / A. Nazarullah, C. Liang, A. Villarreal [et al.] // Am J Clin Pathol. – 2020. – Vol. 154 (3). – P. 319-329.

48. Critical blue-green inclusions in neutrophil and monocyte cytoplasm in a healthy patient affected by COVID-19 / G. Dienstmann, S. R. Comar, M. L. R. Souza [et al.] // Hematol Transfus Cell Ther. – 2020. – Vol. 42 (4). – P. 318-319.

49. Bouvier, S. Atypical monoblasts with micronuclei / S. Bouvier, M. Martin // Blood. – 2017. – Vol. 130 (17). – P. 1958.

50. Woolthuis, C. M. Hematopoietic stem/progenitor cell commitment to the megakaryocyte lineage / C. M. Woolthuis, C. Y. Park // Blood. – 2016. – Vol. 127 (10). – P. 1242-8.

51. Idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP) — new era for an old disease / M. Onisâi, A. M. Vlădăreanu, A. Spînu [et al.] // Rom J Intern Med. – 2019. – Vol. 57 (4). – P. 273-283.

52. Spectrum of clinicohematological profile and its correlation with average parasite density in visceral leishmaniasis / V. Kumar, P. Agarwal, S. Marwah [et al.] // Cytojournal. – 2018. – Vol. 15. – P. 19.

53. Ku, N. K. Unusual finding of a megakaryocyte in a peripheral blood smear / N. K. Ku, H. Rashidi // Blood. – 2017. – Vol. 130 (23). – P. 2573.

54. Kim, Y. R. Current status of the diagnosis and treatment of hemophagocytic lymphohistiocytosis in adults / Y. R. Kim, D. Y. Kim // Blood Res. – 2021. – Vol. 56 (S1). – P. S17-S25.

55. Chronic Neutrophilic Leukemia with Monocytosis / L. Alromaih, L. Abdalla, A. Jamal [et al.] // Eur J Case Rep Intern Med. – 2021. – Vol. 8 (5). – P. 002595.

56. Clinicopathological study of 9 cases of megakaryocytes in pleural and peritoneal fluids / J. Liu, X. Luo, W. Wang [et al.] // Medicine (Baltimore). – 2018. – Vol. 97 (33). – P. e11923.

57. Johnsrud, A. J. Carcinocythemia (carcinoma cell leukemia) / A. J. Johnsrud, S. Pina-Oviedo // Blood. – 2017. – Vol. 130. – P. 2357.

58. Arneth, B. Malaria exflagellation in a human peripheral blood smear / B. Arneth, C. Keller, S. Schaefer // IDCases. – 2017. – Vol. 10. – P. 51-52.

59. Zahid, M. F. Rapidly fatal Klebsiella pneumoniae sepsis in a patient with pyruvate kinase deficiency and asplenia / M. F. Zahid, A. P. S. Bains // Blood. – 2017. – Vol. 130 (26). – P. 2906.

60. Al-Qudah, R. Improving blood cells classification in peripheral blood smears using enhanced incremental training / R. Al-Qudah, C. Y. Suen // Comput Biol Med. – 2021. – Vol. 131. – P. 104265.

Научное издание

Владимир Викторович Базарный
Александр ФедоровичТомилов

ЦИТОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА БОЛЕЗНЕЙ КРОВИ

Монография

2-е издание,
переработанное и дополненное

ISBN 978-5-00168-015-4

Редактор Е. Бортникова
Корректор И. Мокрушина
Дизайн, верстка И. Иванов

Изображение обложки взято из открытых источников Интернета

Подготовлено в печать:
ООО «Информационно-издательский центр «Знак качества»
г. Екатеринбург, ул. Рассветная, 13.
Тел.: +7 (980) 908-01-51
E-mail: pressa-znakk@mail.ru

Подписано в печать 25.07.2022. Формат 60 × 84/16.
Бумага офсетная. Печать цифровая. Усл. печ. лист 7,0.
Тираж 100 экз. Заказ № 207.