

З А Н Я Т И Е №19

Тема: АНЕМИИ. ЭРИТРОЦИТОЗЫ

Цель занятия. Изучить классификации анемий, этиологию, патогенез, клинические проявления и методы диагностики различных видов анемий.

Задачи занятия – студент должен:

З н а т ь:

- основные виды классификаций анемий (по этиопатогенезу, цветовому показателю, типу кроветворения, степени тяжести, регенераторной способности костного мозга, размеру эритроцитов);
- этиологию и механизмы развития отдельных видов анемий, клинические проявления и механизмы их развития;
- лабораторные признаки различных видов анемий;

У м е т ь:

- определять количество эритроцитов в крови с помощью камеры Горяева;
- оценивать содержание гемоглобина в крови с помощью гемометра Сали;
- рассчитывать цветовой показатель;
- определять в мазках крови патологические формы эритроцитов;
- определять вид анемии в исследуемом мазке крови.

О з н а к о м и т ь с я:

- с современными методами диагностики анемий.

К О Н Т Р О Л ь Н Ы Е В О П Р О С Ы

1. Показатели эритроцитов, гемоглобина у взрослых и у детей. Расчетные индексы эритроцитов.
2. Эритропоэз. Стадии эритропоэза.
3. Эритроцитозы, классификация и характеристика. Болезнь Вакеза.
4. Анемии. Характеристика общих клинических симптомов при анемиях и механизмы их развития.

5. Классификации анемий (по этиопатогенезу, степени тяжести, типу кроветворения, цветовому показателю, регенераторной способности, размеру эритроцитов и др.).

6. Постгеморрагические анемии. Картина периферической крови при острой и хронической постгеморрагической анемиях.

7. Железодефицитные анемии. Этиология, патогенез. Железоперераспределительные и сидероахрестические анемии. Сидеропенический синдром. Картина периферической крови.

8. Этиология и патогенез V_{12} -дефицитных (болезнь Аддисона-Бирмера) и фолиеводефицитных анемий. Картина периферической крови. Патогенез основных синдромов.

9. Гипо- и апластические анемии. Этиология, патогенез, диагностика.

10. Гемолитические анемии. Виды (приобретенные, наследственные), причины и механизмы развития. Клинические проявления. Картина периферической крови.

11. Наследственные гемолитические анемии (мембранопатии, гемоглобинопатии, энзимопатии).

12. Гемолитическая болезнь новорожденных. Этиопатогенез. Пути профилактики.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РАБОТЫ

РАБОТА 1. Подсчет количества эритроцитов у кролика после острой кровопотери.

У кролика производим однократное кровопускание 20% от ОЦК. Через несколько суток после кровопотери берем кровь из краевой вены уха для исследования.

Ход работы: В пробирку с помощью автоматической пипетки набираем 4 мл 3%NaCl и 20 мкл крови. После перемешивания для подсчета количества эритроцитов заполняем камеру Горяева с притертым предварительно покровным стеклом.

Разведение крови для подсчета эритроцитов можно осуществлять в меланжере для этого до метки 0,5 набираем кровь. Разводим 3% раствором NaCl до метки 101 (разведение в 200 раз). Смесь интенсивно встряхиваем 5 минут, после чего первые 2 капли раствора выпускаем на ватный шарик и заполняем камеру Горяева.

Под малым увеличением микроскопа подсчитываем количество эритроцитов в 5 больших квадратах, разделенных на 16 маленьких, по диагонали сетки Горяева.

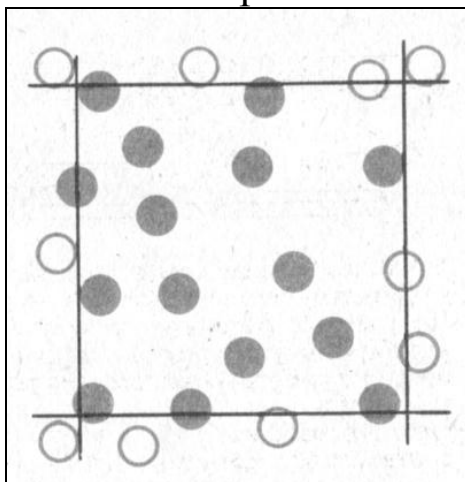


Рис. 9. Правило подсчета клеток крови в квадратах камеры (заштрихованы клетки, которые должны быть присчитаны к данному квадрату)
(Камышников В.С., 2009г.)

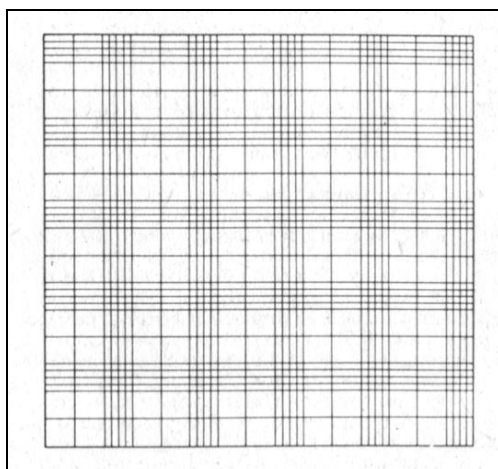


Рис. 10. Сетка Горяева (Камышников В.С., 2009г.)

Расчет содержания эритроцитов производим по формуле:

$$x = \frac{A \times 200 \times 4000}{80} \times 1000000, \text{ где}$$

X – содержание эритроцитов в 1 л крови,
A – сумма эритроцитов в 5 квадратах,
200 – разведение крови в меланжере,
(4000 и 80) – параметры камеры Горяева.

После сокращения показателей:

$$X = A \times 10^{10} / \text{л}$$

РАБОТА 2. Определение содержания гемоглобина по методу Сали.

Наиболее простым и достаточно точным является колориметрический метод определения гемоглобина (Hb) с помощью гемометра Сали (рис.11).

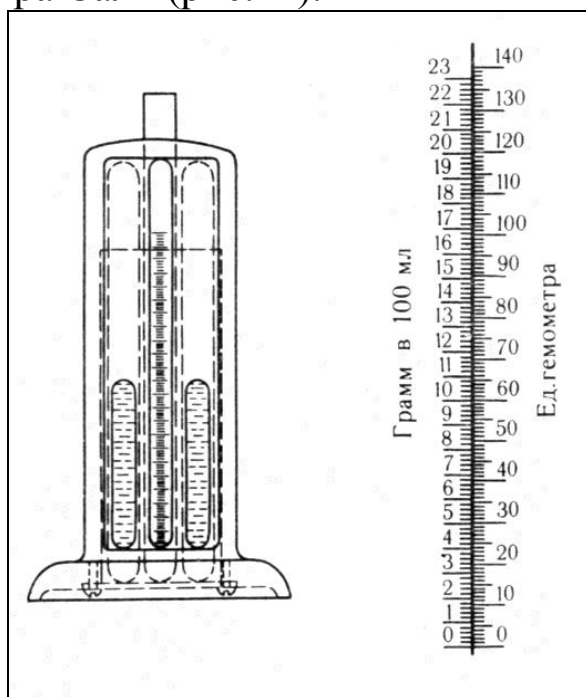


Рис. 11. Схема гемометра Сали

Этот прибор состоит из штатива, в котором имеются 3 вертикальных цилиндрических прореза. В боковых прорезах находятся 2 запаянные с обоих концов стеклянные трубочки, в которых содержится стандартный раствор (1% раствор солянокислого гематина).

100 единиц Сали соответствуют значению концентрации гемоглобина 166,7 г/л. При этой концентрации гемоглобина и стандартных средних значениях диаметра эритроцита и содержания гемоглобина на одну клетку – число эритроцитов составляет 5×10^{12} /л. Важно также знать, что 1 г/л гемоглобина соответствует 0,6 единицы Сали или 1 единица Сали – 1,67 г/л гемоглобина.

Ход работы: в градуированную пробирку гемометра Сали до нижней круговой метки наливаем пипеткой 0,1 N р-р HCl. Сухой

капиллярной пипеткой набираем 20 мкл крови, вытираем наружную поверхность пипетки и осторожно выдуваем кровь в градуированную пробирку. Пипетку несколько раз промываем HCl из верхнего прозрачного слоя. Смесь хорошо перемешиваем и оставляем на 5 минут. Затем осторожно (перемешивая) добавляем дистиллированную воду до достижения одинаковой интенсивности окраски раствора со стандартом. По шкале пробирки определяем содержание гемоглобина в исследуемой крови.

Определение гемоглобина крови гемоглобинцианидным методом

Принцип метода. Гемоглобин при взаимодействии с железосинеродистым калием (красная кровяная соль) окисляется в метгемоглобин (гемоглобин), образующий с ацетонциангидрином окрашенный гемоглобинцианид, интенсивность окраски которого пропорциональна количеству гемоглобина.

Оборудование: фотоколориметр, или спектрофотометр.

Посуда: пипетки на 0,02 мл и 5,0 мл, пробирки

Реактивы: трансформирующий раствор.

Ход определения: 0,02 мл крови приливают к 5,0 мл трансформирующего раствора в пробирке (разведение в 251 раз) и хорошо перемешивают. Через 10 минут измеряют на фотоэлектроколориметре при длине волны 520 нм (зеленый светофильтр) в кювете с толщиной слоя 10 мм против холостой пробы (трансформирующего раствора).

Подготовка КФК-3 к работе. Включаем прибор в сеть и прогреваем в течение 30 минут. Нажимаем клавишу "Пуск". Затем вводим переводной коэффициент. Для этого после нажатия клавиши "F" набираем значение коэффициента (получен предварительными исследованиями путем калибровки прибора; $F=900$) Коэффициент F зависит от прибора, толщины кюветы, объема исследуемого раствора и др.). Устанавливаем длину волны пучка света (520 нм).

Определение количества гемоглобина

В кювету наливаем исследуемый раствор, в контрольную кювету трансформирующий раствор.

Устанавливаем в проходящем луче света контрольную кювету, закрываем крышку прибора и нажимаем клавишу "Г" (готовность).

Затем нажимаем клавишу "Е" – "оптическая плотность". На шкале – 0,000 + 0,002 (это установка "0" для растворителя).

Переводим рычагом в проходящий луч рабочую кювету. На шкале показатели Е исследуемого раствора.

Расчет содержания гемоглобина производят по формуле или по калибровочному графику.

$$\text{Hb (в г \%)} = (E_{\text{оп}}/E_{\text{ст}}) \times C \times K \times 0,001, \text{ где}$$

$E_{\text{оп}}$ – экстинкция опытной пробы;

$E_{\text{ст}}$ – экстинкция стандартного раствора;

C – концентрация гемоглобинцианида в стандартном растворе, в мг %;

K – коэффициент разведения крови;

0,001 – коэффициент для пересчета количества гемоглобина из мг% в г %.

Используя данные по содержанию эритроцитов и гемоглобина, рассчитываем **цветовой показатель (ЦП)** по формуле:

$$\text{ЦП} = \frac{\text{Hb (г/л)} \times 3}{\text{первые 3 цифры содержания эритроцитов}}$$

Определяем вид и степень тяжести анемии.

Определение гематокритного показателя

Гематокритный показатель – это соотношение между объемом форменных элементов крови и объемом плазмы. Метод его определения основан на разделении плазмы и эритроцитов с помощью центрифугирования. Определение производят в гематокрической трубке, представляющей собой стеклянную пипетку, разделенную на 100 равных частей. Перед взятием крови гематокритную трубку промывают раствором гепарина или щавелевокислых солей (0,82 г оксалата калия, 1,2 г оксалата аммония и 100 мл дистиллированной воды). Затем набирают в трубку капиллярную кровь до отметки “100”, закрывают резиновым колпачком и центрифугируют в течение 1–1,5 ч при 15000 об./мин. После этого отмечают, какую часть в градуированной трубке составляют эритроциты.

Гематокритную величину определяют с помощью отсчетной шкалы, прилагаемой к центрифуге. В норме объем массы эритроцитов меньше объема плазмы. Гематокритная величина у женщин составляет 36-42%, у мужчин – 40-48%. Увеличение показателя наблюдается при эритремии и обезвоживании организма, уменьшение – при анемиях.

Гематокритным показателем пользуются для расчета массы эритроцитов, циркулирующих в крови, и некоторых других показателей крови, например средней процентной концентрации гемоглобина в одном эритроците и среднего объема одного эритроцита.

РАБОТА 3. Микроскопия мазков крови больных с хронической постгеморрагической (железодефицитной) анемией (рис. 12).

Ход работы: под иммерсионным объективом исследуем мазок крови с хронической постгеморрагической анемией.

Выявляем: гипохромию, микроцитоз и др.

Находим наиболее типичные клетки и зарисовываем их.

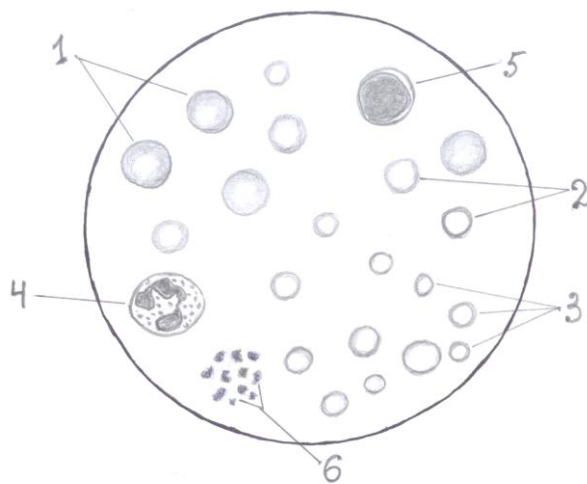


Рис. 12. Картина крови при железодефицитной анемии

- 1 – эритроцит нормохромный
- 2, 3 – эритроцит гипохромный, микроцит
- 4 – сегментоядерный нейтрофильный

5 – лимфоцит
6 – тромбоциты

РАБОТА 4. Микроскопия мазков крови больных с В₁₂- и фолиеводефицитной анемией

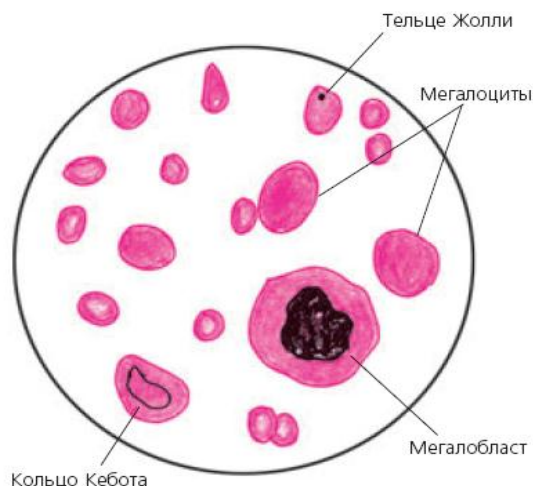


Рис. 13. Картина крови при В₁₂- и фолиеводефицитной анемии
(по Абрамовой М.Г., 1985г. в модификации)

Задачи:

1.

Больная Т., 3 года (по национальности азербайджанка), поступила в детскую клинику в тяжелом состоянии по поводу пневмонии и гематурии. Объективные клинические данные: кожа и склера желтушны, температура тела 39°C, частое поверхностное дыхание, адинамия, правосторонняя крупозная пневмония, селезенка и печень увеличены, моча черного цвета, содержит гемоглобин и гемосидерин. *Анализ крови:* Нв – 62 г/л, эритроциты – $2,3 \times 10^{12}$ /л, лейкоциты – 15×10^9 /л, нейтрофильный лейкоцитоз со сдвигом влево, СОЭ – 25 мм/ч. *Мазок крови:* пойкилоцитоз, анизоцитоз, эритроциты с базофильной пунктацией, единичные серповидные эритроциты, полихроматофилы. При электрофорезе гемоглобина обнаружены НвА и НвS. Какой патологией страдает ребенок? Почему у больной возникла гемоглобинурия?

2.

Возможен ли резус-конфликт, если мать Rh-положительная, ребенок Rh-отрицательный и, наоборот, мать Rh-отрицательная, ребенок Rh-положительный? У кого и как проявится резус-конфликт, при каких условиях?

3.

Больной Н., 68 лет, перенесший семь лет назад тотальную резекцию желудка по поводу язвенной болезни, поступил в терапевтическую клинику с жалобами на общую слабость, головокружение, сердцебиение и одышку, особенно при физической нагрузке, боль и жжение в области языка, частые поносы, ощущение онемения и «ползания мурашек» в конечностях.

Объективные данные: бледно-желтушный цвет кожи и склеры, гладкий, блестящий, ярко-красного цвета язык, печень несколько увеличена, поверхностная чувствительность (болевая, тактильная) нарушена. Анализ желудочного сока: ахилия, ахлоргидрия до и после введения гистамина.

Анализ крови: Нв – 42 г/л, эритроциты – $0,8 \times 10^{12}$ /л, лейкоциты – 3×10^9 /л, тромбоциты – 100×10^9 /л, СОЭ – 14 мм/ч.

Мазок крови: анизоцитоз (макроцитоз), пойкилоцитоз, мегалоциты с тельцами Жолли, кольцами Кебота, гиперхромия эритроцитов, оксифильные и полихроматофильные мегалобласты, полисегментоядерные нейтрофильные гранулоциты.

Анализ пунктата костного мозга: лейкоэритробластическое отношение 1:3, много оксифильных и полихроматофильных мегалобластов (красный костный мозг). Какая патология крови имеется у больного, каков патогенез? Перечислить системы, поражение которых является характерным для клинической картины заболевания.

4.

У больного с хроническим гломерулонефритом при исследовании крови выявлено: количество эритроцитов – $2,4 \times 10^{12}$ л, гемоглобина – 68 г/л, цветовой показатель – 0,85, количество лейкоцитов – $5,6 \times 10^9$ л. Выраженного сдвига в лейкоцитарной формуле не обнаружено. В мазке: нормохромия, анизоцитоз, пойкилоцитоз. Возможна ли взаимосвязь между нарушением функции почек изменениями показателей крови?

Темы рефератов:

1. Наследственные гемолитические анемии (мембранопатии, гемоглобинопатии, энзимопатии).
2. Гемолитическая болезнь новорожденных. Этиопатогенез. Пути профилактики.