

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ИВАНОВСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И СОЦИАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

НОРМАЛЬНАЯ ФИЗИОЛОГИЯ В ВОПРОСАХ И ОТВЕТАХ

Физиология системы крови

Учебно-методические разработки
для иностранных студентов

Иваново 2008

Составители: А.Н.Булыгин
С.О.Тимошенко
И.Г.Колодина
О.А.Пахрова

Научный редактор – заведующий кафедрой нормальной физиологии ГОУ ВПО ИвГМА Минздравсоцразвития России, доктор медицинских наук, профессор С.Б.Назаров.

Настоящие учебно-методические разработки, как и предыдущие подобные выпуски, составленные по принципу «вопрос-ответ», подготовлены специально для иностранных студентов 2 курса, изучающих нормальную физиологию человека. Разработки составлены строго в соответствии с учебной программой по курсу нормальной физиологии для студентов высших медицинских учебных заведений (Москва, 2006). В данном выпуске рассматриваются вопросы, относящиеся к программному разделу «Физиология крови», в том числе и клинические методы исследования системы крови. Наш выпуск мы назвали «Физиология системы крови», подчеркивая этим важность понимания системного подхода к анализу функций крови, являющейся внутренней средой организма и, таким образом, имеющей прямое отношение к функционированию всех прочих физиологических систем. Кровь реагирует на самые различные воздействия из внешней или внутренней среды; состав крови обязательно изменяется при различных психофизиологических состояниях человека; изменение состава крови обязательно в случае какой-либо патологии, даже, казалось бы, не касающейся непосредственно самой системы крови.

Авторы не претендуют на полный анализ функций системы крови и обращают внимание студента лишь на наиболее важные для клиники вопросы этого раздела.

Авторы с благодарностью воспримут конструктивные замечания и советы по совершенствованию этих разработок в последующих изданиях.

Физиология системы крови

В физиологии по отношению к крови существуют два понятия:

- кровь как *ткань*;
- кровь как *система*.

1. Что означает понятие «кровь – ткань»?

Это понятие известно Вам из курса гистологии. Кровь – разновидность соединительной ткани. Ее особенностью является то, что она жидкая. Клеточными элементами являются эритроциты, лейкоциты и тромбоциты, а роль межклеточного вещества играет плазма крови.

Кровь – как ткань, называют еще *внутренней средой организма* (наряду с лимфой, тканевой жидкостью и ликвором), благодаря которой создается определенная «среда обитания» для клеток нашего организма. Кровь – как ткань, относительно постоянна по своему составу и это состояние со времен Клода Бернара называют *гомеостазом*. Основными показателями гомеостаза являются следующие:

- *pH крови* колеблется в достаточно узком диапазоне 7,38-7,42 благодаря работе буферных систем (белковой, фосфатной, карбонатной, гемоглобиновой); подробнее см. курс биологической химии;
- *осмотическое давление крови*, создающееся совокупностью разнообразных солей плазмы крови, составляет 7,3-7,6 атм. (около 300 мОсм/кг) или 5500-5700 мм рт. ст.; частью этого давления является *онкотическое давление*, обеспечиваемое белками плазмы крови и составляющее 0,03-0,04 атм. (1,5-1,6 мОсм/кг) или 25-30 мм рт. ст.;
- *температура крови*, которую принимают за внутреннюю температуру тела, средние колебания которой составляют 37,2-37,5⁰ С;
- *содержание белков, аминокислот, моносахаридов и других компонентов плазмы крови* (подробнее об этом см. курс биологической химии).

Все эти показатели крови необходимы для поддержания нормальной работы клеток самых различных органов и тканей нашего организма, а также клеток самой крови, количественный состав которых также относительно постоянен.

2. Каковы функции крови в организме человека?

Кровь в организме человека выполняет следующие основные функции:

1) *транспортная* – с током крови транспортируются различные вещества и газы из одних участков организма в другие, например:

- кислород транспортируется из капилляров малого в капилляры большого круга кровообращения; транспорт углекислого газа идет в противоположном направлении (*дыхательная функция крови*);
- питательные вещества, всасывающиеся в желудочно-кишечном тракте, разносятся ко всем органам и тканям, нуждающимся в них (*трофическая функция крови*);

- продукты метаболизма с венозной кровью выносятся от функционирующих клеток к органам выделения (**эксcretорная функция крови**);

- нагретая кровь от скелетных мышц, печени и других, активно функционирующих органов разносится по всему телу (**терморегуляторная функция крови**);

2) **гомеостатическая** – в крови содержатся буферные системы, обеспечивающие кислотно-основное равновесие; системы, поддерживающие постоянство электролитного состава, белков и других компонентов крови;

3) **защитная** – клетки крови, компоненты плазмы крови играют ведущую роль в системе иммунитета, участвуют в работе системы РАСК (система гемостаза). Ниже мы подробнее рассмотрим все эти вопросы;

4) **регуляторная** – в кровь выделяются различные биологически активные вещества (гормоны, гормоноподобные вещества и др.), оказывающие регулирующее влияние на работу различных клеток, тканей, органов и систем нашего организма. Эта функция неоднократно рассматривалась в других разделах курса, и в дальнейшем изложении настоящего учебного материала мы к ней уже не будем возвращаться.

3. Каков объем крови в организме человека?

Для взрослого человека нормальный объем крови рассчитывается от массы тела и составляет от нее 6-7% (для новорожденного 8-8,5%). Часто при расчетах должного объема крови у человека исходят из величины 70 мл крови на 1 кг массы тела. Таким образом, у человека с массой тела 70 кг, объем крови составляет около 5 литров. Нормальный для человека объем крови обозначается термином **нормоволемия**. Повышенный по сравнению с нормой объем крови называется **гиперволемией**, а пониженный – **гиповолемией**.

Большая часть крови свободно циркулирует в сосудистом русле. Но часть ее находится в депо, где она замедляет свое течение, и даже несколько сгущается. Такие депо носят название **«депо незамкнутого типа»**, в отличие от **депо замкнутого типа**, которое представлено селезенкой у некоторых видов животных (собаки, лисы, волки и др.). Депо крови у человека может вмещать до 40-50% общего ее объема и представлено сосудами легких, печени, подкожными сосудистыми сплетениями и др. В разных депо содержится разный объем крови. Так, например, в сосудах легких может находиться до 500 мл, а в сосудах печени до 1 л крови.

Понятие «кровь – как ткань», вы уже рассматривали в курсе гистологии и ниже мы еще вернемся к этому вопросу. А сейчас перейдем к анализу понятия «система крови».

4. Что называется системой крови?

Понятие «система крови» появилось в 1939 году. Его сформулировал крупный отечественный терапевт академик Г.Ф.Ланг. Под системой крови он понимал:

- *циркулирующие форменные элементы крови* (эритроциты, лейкоциты, тромбоциты);
- *органы кроветворения*, то есть красный костный мозг (селезенка и печень в антенатальном периоде);
- *органы кроверазрушения* (мононуклеарно-фагоцитарная система);
- *аппарат нервно-гуморальной регуляции процессов кроветворения и кроверазрушения*.

С 1970 г. по предложению профессора Л.С.Горожанина в систему крови включается и *депо крови* вместе с аппаратом нейрогуморального контроля над органами депо.

В системе крови принято различать три подсистемы:

- эритроцитарную;
- лейкоцитарную;
- тромбоцитарную.

Все эти системы тесно связаны друг с другом, но вместе с тем, каждая из них решает свои задачи. В очень упрощенном виде основные задачи этих систем можно сформулировать следующим образом:

- ***эритроцитарная система*** участвует в транспорте газов и поддержании кислотно-основного баланса в крови;
- ***лейкоцитарная система*** участвует в системе иммунной защиты организма;
- ***тромбоцитарная система*** участвует в работе системы регуляции агрегатного состояния крови.

Наиболее хорошо изучен системный принцип организации работы эритроцитарной системы

Эритроцитарная система – это физиологическая система, состоящая из эритроцитов циркулирующей крови, органов их образования, депонирования, разрушения и аппарата нейрогуморальной регуляции и координации работы элементов этой системы

Рассмотрим основные элементы эритроцитарной системы, как единого целого

5. Каковы структурные и функциональные особенности эритроцитов?

Эритроциты (*красные клетки крови*) человека имеет ряд особенностей, основными из которых являются следующие:

- *зрелые клетки не имеют ядра*; благодаря этому интенсивность метаболических процессов в эритроците значительно снижена, а значит, снижены и затраты кислорода на «внутренние нужды» эритроцита, поэтому, бóльшая его часть транспортируется эритроцитами по системе большого круга кровообращения к нуждающимся в нем клеткам различных органов и тканей;
- *эритроциты имеют форму двояковогнутого диска*; следствием этого является возможность, скручиваясь, проходить через узкие капилляры, несколько бóльшая площадь поверхностной мембраны (по сравнению со сфе-

роцитом) и приблизительная равноудаленность внутренних структур эритроцита от поверхности мембраны, что имеет большое значение для быстрого газообмена при прохождении эритроцита через капилляр; при любой другой форме эритроцитов говорят о **пойкилоцитозе**;

- *эритроциты имеют очень эластичную поверхностную клеточную мембрану*, что обеспечивает высокую степень деформируемости эритроцитов, необходимую при их прохождении через капилляры; с возрастом эластичность мембраны ухудшается, в связи с чем эритроциты становятся более подверженными **гемолизу**, то есть разрушению;

- *средний диаметр эритроцитов составляет 7-8 мкм* (такие клетки называют **нормоцитами**); клетки диаметром более 8 мкм называются **макроцитами** – они из-за своих размеров могут не пройти через капилляры; клетки диаметром менее 6,5 мкм называются **микроцитами** – они легко проходят через капилляры, но переносят меньше кислорода; наличие в крови одновременно клеток разных размеров носит название **анизоцитоз**;

- *гемоглобин содержится внутри эритроцита*; это значительно снижает вязкость крови, что улучшает ее реологические свойства

- *средняя продолжительность жизни эритроцитов составляет 90-100 дней*; эритроциты, имеющие структурно-функциональные повреждения, имеют значительно меньшую продолжительность жизни; но некоторые клетки доживают до 120-130 дней; эритроциты, отжившие свой срок, погибают в клетках мононуклеарно-фагоцитарной системы путем **эритрофагоцитоза** (клетки-макрофаги фагоцитируют эритроциты).

- *в норме в крови присутствуют эритроциты разного возраста*; они отличаются друг от друга стойкостью поверхностной клеточной мембраны к осмотическим, механическим, химическим, термическим воздействиям. Старые эритроциты, а также эритроциты, имеющие дефекты, возникшие при их дифференцировке в красном костном мозге или при воздействии на них неблагоприятных факторов, попавших в кровь, обладают пониженной стойкостью, а молодые эритроциты, только что вышедшие из красного костного мозга (ретикулоциты), обладают повышенной стойкостью (см. вопрос 9).

6. Какова нормальная концентрация эритроцитов в крови?

Подсчет эритроцитов в настоящее время осуществляется как с помощью автоматических счетчиков, так и традиционным (рутинным) методом подсчета клеток в камере Горяева (за рубежом аналогами этой камеры являются камера Бюркера или камера Ньюбауэра). *Для облегчения подсчета эритроцитов строго определенный объем крови разводят в 200 раз физиологическим раствором!*

Для взрослого человека нормальной считается концентрация эритроцитов от 3,9 до 5,5 Т/л. Причем для мужчин эти значения несколько выше (4,0-5,5 Т/л), чем для женщин (3,9-4,7 Т/л). Эти различия обусловлены разной концентрацией половых гормонов в женском и мужском организмах (мужские половые гормоны стимулируют эритропоэз) и фактически являются вторичным половым признаком. Для новорожденного ребенка нормальной

считается более высокая концентрация эритроцитов (5,4-7,2 Т/л), что связано с более интенсивным эритропоэзом (см. вопрос № 17).

Отклонения от нормальной концентрации обозначаются терминами **эритроцитоз** (повышение концентрации эритроцитов в крови) и **эритропения** (снижение концентрации эритроцитов в крови). Эритроцитоз и эритропения могут быть *абсолютными* или *относительными*.

Абсолютный эритроцитоз (или эритропению) называют *истинным*, так как увеличивается (или уменьшается) общее количество эритроцитов и всех эритроидных клеток, входящих в **эритрон**.

Эритрон – совокупность зрелых эритроцитов, циркулирующих в крови и находящихся в депо крови, а также их предшественников, находящихся в красном костном мозге

Относительный эритроцитоз (или эритропению) называют *ложным* или *перераспределительным*, так как увеличение (или уменьшение) концентрации эритроцитов в единице объема циркулирующей крови происходит без изменения общего количества клеток эритрона.

7. Какие причины могут привести к абсолютному изменению концентрации эритроцитов?

Причинами **абсолютного эритроцитоза** могут быть:

- длительные физические нагрузки (тренировки), длительная гипоксия (свыше недели), при этом абсолютный эритроцитоз будет **физиологическим**; в любом из этих случаев механизмом истинного эритроцитоза является усиление эритропоэза;

- повышение активности ККМ (при опухолях), либо снижение интенсивности гемолитических процессов – при этом эритроцитоз будет **патологическим**. Увеличение клеточного состава крови может быть достигнуто и путем переливания крови (эритроцитарной массы).

Причинами **абсолютной эритропении** могут быть ослабление эритропоэза, усиление гемолитических процессов или кровопотеря.

8. Какие причины могут привести к относительному изменению концентрации эритроцитов?

Причинами **относительного эритроцитоза** могут быть:

- кратковременная физическая нагрузка, эмоциональное возбуждение, кратковременная гипоксия (сроком до недели); в любом случае механизмом относительного эритроцитоза является выход более концентрированной крови из депо;

- избыточная потеря жидкости в результате усиленного потоотделения, диареи или ожоговой болезни, а также недостаточное поступление жидкости в организм также могут привести к относительному эритроцитозу.

Причиной **относительной эритропении** может быть, наоборот, избыточное поступление жидкости в организм (обильное питье, внутривенное введение физиологического раствора или кровезамещающих жидкостей).

9. Как оценивается стойкость (резистентность) мембраны эритроцитов? Какова нормальная стойкость эритроцитов и на что она указывает?

В лабораторной практике стойкость мембраны эритроцитов исследуют на прочность к механическим, химическим, осмотическим воздействиям. Чаще исследуют осмотическую резистентность эритроцитов. Для этого используют серию *гипотонических растворов* поваренной соли. Известно, что в гипотонических растворах вода (растворитель) стремится в эритроцит, что приводит к его набуханию. При определенном объеме воды внутри эритроцита его мембрана не выдерживает механического давления воды на нее изнутри, что приводит к разрушению эритроцита. Нормальные эритроциты здорового взрослого человека начинают разрушаться в растворах поваренной соли с концентрацией 0,46-0,48% (рис. 1). В лабораторной практике такую **максимальную концентрацию раствора поваренной соли, при которой начинается гемолиз эритроцитов**, принимают за **минимальную осмотическую стойкость эритроцитов**. При этом разрушаются менее стойкие из всей популяции эритроцитов. При более низких концентрациях раствора поваренной соли оставшиеся эритроциты продолжают еще больше набухать и разрушаться. При концентрации 0,32-0,34% все нормальные эритроциты здорового человека разрушаются. Такую **максимальную концентрацию раствора поваренной соли, при которой разрушаются все эритроциты**, принимают за **максимальную осмотическую стойкость эритроцитов**.

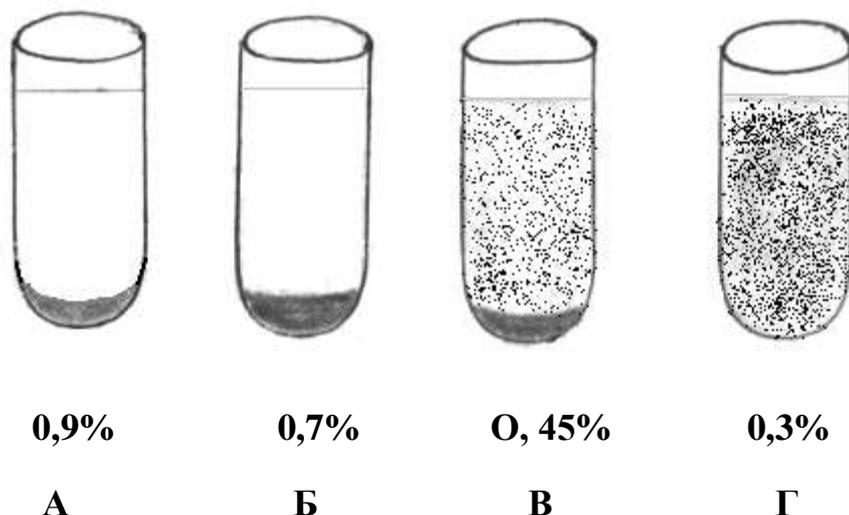


Рис. 1. Общий вид результата лабораторного исследования осмотической стойкости эритроцитов здорового взрослого человека

Внизу указаны концентрации раствора поваренной соли в пробирках; А – гемолиза нет (т. к. надосадочная жидкость бесцветная), все эритроциты осели на дно пробирки; Б – гемолиза нет, осадок чуть больше (т. к. эритроциты набухли); В – появился гемолиз (т. к. надосадочная жидкость прозрачная, но слегка окрашена в розовый цвет), осадок есть (*минимальная осмотическая резистентность*); Г – полный гемолиз, осадка нет (*максимальная осмотическая резистентность*)

При анализе осмотической резистентности всегда следует иметь в виду возможность появления в крови популяции более или менее стойких эритроцитов. Например, *понижение минимальной осмотической стойкости* эритроцитов (гемолиз начинается при более высоких концентрациях, чем 0,48%-ный раствор поваренной соли) всегда свидетельствует о преобладании в крови старых или поврежденных эритроцитов. Если же *повышается максимальная осмотическая резистентность* (полный гемолиз эритроцитов происходит при концентрациях, меньших, чем 0,32%-ный раствор поваренной соли), то это свидетельствует о появлении в крови молодых, более устойчивых форм эритроцитов (ретикулоцитов). А это в свою очередь наводит на мысль об усилении продукции красных клеток крови, то есть об усилении эритропоэза.

Таким образом, все методики оценки стойкости эритроцитов основаны на том, что при воздействии неблагоприятных факторов (кислоты, токсины, гемолизины, механическое воздействие и др.) мембрана эритроцитов до поры до времени не повреждается. Однако при превышении какого-то строго определенного предела мембрана разрушается и происходит *гемолиз* эритроцитов, то есть выход его содержимого (в том числе и гемоглобина) из клетки. При этом раствор, в котором находились эритроциты, окрашивается в слабо розовый или красный цвет (в зависимости от количества вышедшего гемоглобина).

10. Что собой представляет гемоглобин?

Гемоглобин – это хромопротеид, имеющий молекулярную массу 64500Д и состоящий из белка глобина и гема (более подробно о структуре молекулы гемоглобина см. учебник по биологической химии). Гемоглобин является важнейшим переносчиком кислорода и углекислого газа в крови.

Различают несколько видов гемоглобина, последовательно появляющихся в ходе онтогенетического развития человека HbG, HbF, HbA. Все эти виды гемоглобина отличаются, друг от друга только по структуре белковой части (структура гема идентична для гемоглобинов всех видов животных!).

HbG (примитивный, эмбриональный) появляется в эритроцитах у 19-20-ти дневного эмбриона и присутствует в крови до 6 месяцев внутриутробного развития.

HbF (фетальный гемоглобин) – появляется в эритроцитах на 8-36 неделе внутриутробного развития и составляет 90-95% гемоглобина плода перед его рождением. После рождения его количество резко снижается, но даже в крови взрослого человека определяются его незначительные следы (0,1-2%).

HbA (дефинитивный или гемоглобин взрослого человека) – составляет основную массу гемоглобина взрослого человека и может вступать в различные химические соединения.

12. Назовите основные химические соединения гемоглобина и их функциональное значение?

Среди различных форм гемоглобина принято выделять *физиологические*, то есть встречающиеся в организме здорового человека в обычных условиях его существования и *патологические*, появляющиеся в крови при воздействии неблагоприятных факторов среды.

Физиологические соединения:

- **оксигемоглобин** (HbO_2) – соединение гемоглобина с кислородом, образующееся в крови, протекающей по капиллярам малого круга кровообращения. При этом молекула гемоглобина не окисляется, так как железо остается двухвалентным (присоединение кислорода к гему происходит за счет ковалентных связей);

- **дезоксигемоглобин** (HbH) – восстановленный (редуцированный) гемоглобин, то есть гемоглобин, освободившийся от кислорода в капиллярах большого круга кровообращения;

- **карбгемоглобин** (HbCO_2) – соединение гемоглобина с диоксидом углерода, образующееся в крови, протекающей в капиллярах большого круга кровообращения.

Патологические соединения:

- **карбоксигемоглобин** (HbCO) – соединение гемоглобина с угарным газом. Степень сродства Hb к CO в 200-300 раз больше, чем к кислороду, в результате чего при появлении малейших примесей CO во вдыхаемом воздухе большая часть гемоглобина становится связанной с CO . Карбоксигемоглобин – соединение значительно более прочное, чем HbO_2 . Молекула HbCO распадается 10000 раз медленнее молекулы HbO_2 . Следствием этого является выключение гемоглобина из кислородтранспортной функции, что быстро приводит к смерти;

- **метгемоглобин** (MetHb) – соединение, образующее при истинном окислении молекулы гемоглобина, то есть при переходе Fe^{2+} в Fe^{3+} . Это возможно при воздействии на гемоглобин таких окислителей как нитриты, нитраты, сульфаниламиды, перекиси и др.

13. Какова роль гемоглобина как буферной системы крови?

Буферные системы крови (фосфатная, бикарбонатная, белковая и гемоглобиновая) обеспечивают постоянство pH крови (подробнее см. курс биологической химии). Роль гемоглобина в осуществлении этой задачи заключается в связывании протонов H^+ , в избытке образующихся в процессе метаболизма. В капиллярах большого круга H^+ связывается с гемоглобином и переносится в капилляры малого круга кровообращения. Здесь (в капиллярах малого круга) в момент оксигенации молекулы гемоглобина H^+ отщепляется от нее и связывается с HCO_3^- , в результате чего образуется угольная кислота (H_2CO_3), которая под влиянием карбоангидразы расщепляется на CO_2 и H_2O . CO_2 выводится из организма, а H^+ остается связанным в виде воды.

14. Какова нормальная концентрация гемоглобина в крови?

Концентрация гемоглобина в крови взрослого человека составляет в среднем 120-165 г/литр. Причем для мужчин эти значения несколько выше

(130-165 г/литр), чем для женщин (120-145 г/литр), что обусловлено половыми отличиями у них концентрации эритроцитов. Для новорожденных в связи с более высокой концентрацией эритроцитов характерны значительно бóльшие концентрации гемоглобина (180-240 г/литр).

Снижение концентрации гемоглобина, по сравнению с возрастной нормой, обозначается термином *олигохромемия*, однако в практике чаще применяется термин *анемия*.

К анемии могут привести:

- *эритропения* (см. вопрос №6);
- *нарушение синтеза гемоглобина, вызванное дефицитом белка (глобина), железа или витаминов, обеспечивающих нормальный синтез гемоглобина (цианкобаламин, фолиевая кислота), вызванное нарушением всасывания железа в желудочно-кишечном тракте (наблюдается при дефиците аскорбиновой кислоты).*

Последствием анемии будет снижение кислородной емкости крови и нарушение обеспечения тканей кислородом.

15. Каков основной принцип определения концентрации гемоглобина в крови?

Известно несколько различных методов определения концентрации гемоглобина в крови. Основной принцип этих методов заключается в том, что все формы гемоглобина, имеющиеся на данный момент в крови человека, переводятся в одно соединение (соль), имеющее стандартную окраску и стандартные спектральные характеристики. Например, в классическом методе Сали кровь смешивают с 0,1N HCl для того, чтобы, во-первых, вызвать кислотный гемолиз эритроцитов, а, во-вторых, перевести все формы гемоглобина в *солянокислый гематин*. В современных методах используются трансформирующие растворы, содержащие цианиды, дающие при соединении с гемоглобином более стойкую соль, длительно сохраняющую свою окраску. Подробнее методику определения концентрации гемоглобина см. в разделе «Функциональные методы исследования системы крови».

Другие составляющие эритроцитарной системы (красный костный мозг, мононуклеарно-фагоцитарная система, органы – депо крови) достаточно подробно рассмотрены в курсе гистологии. Далее нашей целью является анализ механизмов регуляции эритроцитарной системы, основной задачей которых является поддержание постоянства клеточного состава циркулирующей крови, а в случае необходимости – повышение или понижение концентрации эритроцитов.

16. Каковы основные пути поддержания постоянства концентрации эритроцитов в крови?

Поддержание постоянства эритроцитарного состава крови может быть достигнуто путем согласованной регуляции следующих процессов:

- *эритропоэза*, то есть продукции эритроцитов, осуществляемой у взрослого человека в красном костном мозге;

- *гемолиза* эритроцитов, то есть их разрушения и элиминации (выведения) из сосудистого русла (см. вопрос № 18);
- *депонирования*, то есть временного частичного (или полного) выключения эритроцитов из кровотока.

17. Каковы основные механизмы регуляции эритропоэза?

В регуляции эритропоэза участвуют нервные и гуморальные механизмы, представляющие собой достаточно стройную систему, следящую за постоянством концентрации эритроцитов в крови. Однако эта система отслеживает не столько саму концентрацию эритроцитов, сколько содержание кислорода в крови, которое напрямую зависит от концентрации эритроцитов и содержащегося в них гемоглобина. В связи с вышеизложенным процесс регуляции интенсивности эритропоэза начинается с хеморецепторов, расположенных в крупных артериальных сосудах (каротидный синус, дуга аорты). Адекватным раздражителем для этих рецепторов является парциальное напряжение кислорода в артериальной крови. При понижении pO_2 в крови частота импульсов, поступающих по афферентным нервам в гипоталамус увеличивается, или, наоборот, уменьшается при увеличении pO_2 в крови (рис. 2).

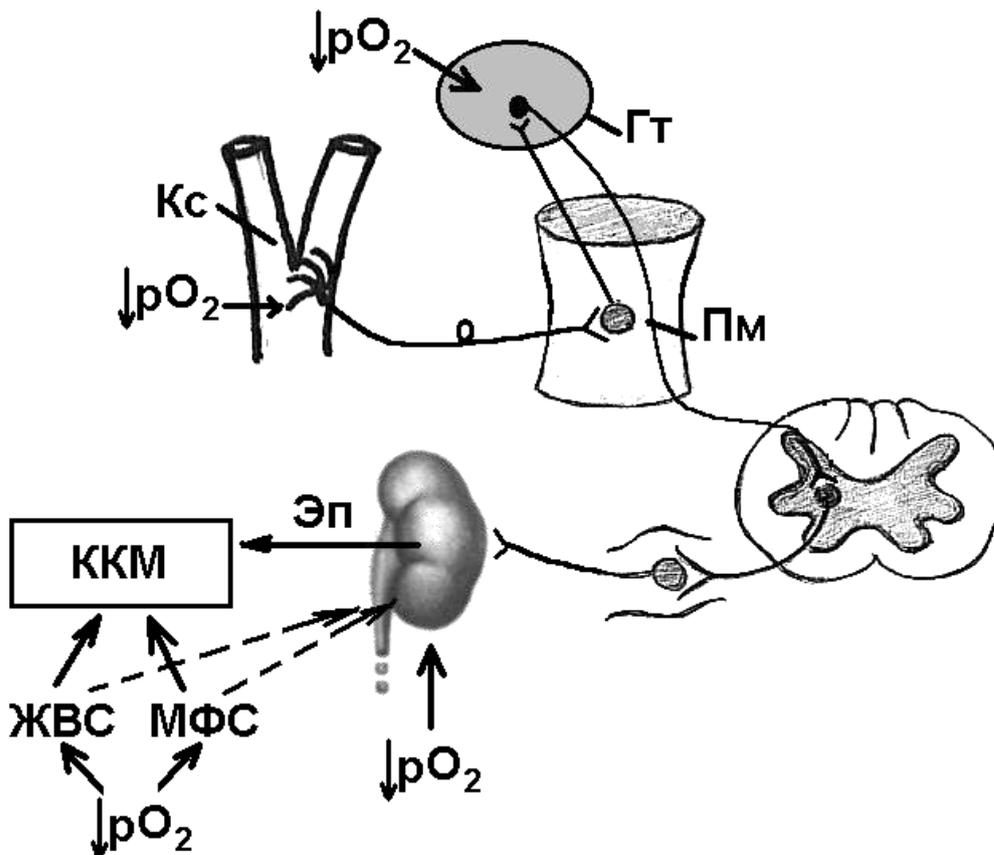


Рис. 2. Схема регуляции эритропоэза в условиях гипоксии

ГТ – гипоталамус; Пм – продолговатый мозг; Кс – каротидный синус; Эп - эритропоэтин; ККМ – красный костный мозг; ЖВС – железы внутренней секреции, МФС - мононуклеарная фагоцитарная система; $\downarrow pO_2$ – снижение парциального напряжения кислорода в крови; пунктирные стрелки отражают опосредованное влияние; прямые стрелки – прямое влияние факторов на органы (см. объяснение в тексте)

Разберем конкретную ситуацию, связанную с *гипоксемией* (понижение содержания кислорода в крови), вызванной кровопотерей или подъемом в горы. При этом возрастает количество импульсов, поступающих по афферентным волокнам блуждающего нерва с хеморецепторов в продолговатый мозг и далее в гипоталамус (следует отметить, что и в самом гипоталамусе есть хеморецепторы, реагирующие на изменение уровня кислорода в крови). Из гипоталамуса импульсы по нисходящим путям поступают в тораколумбальный отдел спинного мозга, а оттуда по симпатическим нервам достигают почки, где происходит усиление выработки *эритропоэтина* (это гормоноподобное вещество с молекулярной массой около 46000-60000 Д, относящееся к гликопротеидам). С током крови эритропоэтин попадает в красный костный мозг и оказывает стимулирующее влияние на эритропоэтинчувствительные клетки эритроидного ряда. При этом скорость их дифференцировки и созревания значительно возрастает, то есть усиливается эритропоэз.

При увеличении концентрации эритроцитов выработка эритропоэтина уменьшается и снижается интенсивность эритропоэза. Этому способствует появление в крови *ингибиторов* эритропоэза, которые, по-видимому, образуются в интерстициальной ткани почки.

В регуляции эритропоэза принимают участие МФС и ЖВС (см. вопросы №6, 18).

18. Каковы основные механизмы гемолиза эритроцитов в организме человека?

По месту протекания этого процесса выделяют 3 вида гемолиза:

- *внутрисосудистый*; около 10% эритроцитов разрушаются в циркулирующей крови;
- *внесосудистый*; основная масса эритроцитов разрушается в тканях, богатых макрофагами (печень, селезенка);
- *костномозговой*; 5-10% разрушаются в синусах красного костного мозга

По механизму выделяют следующие виды гемолиза:

- *механический гемолиз* осуществляется непосредственно в кровеносном русле, в тех местах, где имеет место турбулентное движение крови; в норме этот вид не имеет большого значения, но в совокупности с другими факторами, понижающими стойкость эритроцитов, его роль возрастает; механически поврежденные эритроциты захватываются макрофагами;
- *воздействие тканевых гемолизинов*, повреждающих мембрану эритроцитов и тем самым подготавливающих их к эритрофагоцитозу; воздействие гемолизинов происходит в капиллярах различных тканей (печень, селезенка, скелетные мышцы и др.) при прохождении по ним эритроцитов;
- *эритрофагоцитоз* заключается в том, что старые или дефектные эритроциты в результате изменения внутреннего скелета и структуры мембраны эритроцита теряют свою привычную форму и превращаются в сфероциты; эти клетки не могут пройти через узкие капилляры органов, богатых

макрофагами (в частности, селезенки) и фагоцитируются этими макрофагами; этот механизм имеет ведущее значение в элиминации красных клеток крови из организма; путем эритрофагоцитоза заканчивается жизненный цикл механически поврежденных эритроцитов и эритроцитов, подвергшихся воздействию гемолизина;

- **биологический гемолиз**; он имеет место при укусе человека змеями, некоторыми насекомыми и попадании в результате этого в кровь человека различных токсинов (гемолизина);

- **химический гемолиз** не встречается у здорового человека, но при попадании в организм различных химических веществ, например, алкоголя, может иметь место (особенно при высокой концентрации алкоголя или его суррогатов).

19. Каковы механизмы участия депо крови в регуляции эритроцитарного состава крови?

Известно, что в сосудах органов-депо кровь замедляет свое течение. При усилении физиологической активности организма (физическая нагрузка, эмоциональное возбуждение, болевое воздействие) происходит рефлекторное сужение сосудов микроциркуляторного русла (активируется симпатический отдел вегетативной нервной системы), которое поддерживается гуморальными механизмами (в крови увеличивается концентрация катехоламинов). В результате кровь выходит из депо и возникает **перераспределительный** эритроцитоз (см. вопрос № 8).

20. По каким общепринятым показателям оценивают состояние эритроцитарной системы?

Состояние эритроцитарной системы оценивается по целому ряду показателей, среди которых общепринятыми являются следующие:

- **гематокрит** (гематокритное число; показатель гематокрита) – это доля объема крови, занимаемая форменными элементами (в основном эритроцитами); в норме для взрослого человека он составляет 36-48% (для женщин 36-42%, для мужчин 40-48%). Для новорожденного нормальными считаются более высокие значения (до 57%). Снижение гематокрита (олигоцитемия) указывает либо на эритропению (абсолютную или относительную), либо на изменение формы и размеров эритроцитов (микроцитоз); повышение гематокрита (полицитемия) чаще всего обусловлено повышением концентрации эритроцитов;

- **концентрация эритроцитов** (см. вопрос № 6);

- **концентрация гемоглобина** (см. вопрос № 14);

- **среднее содержание гемоглобина в эритроците (ССГЭ)** – расчетный показатель, указывающий на степень насыщения эритроцита гемоглобином; определяется как отношение $[Hb]$ к $[Эр]$ (подробнее см. в разделе «Функциональные методы исследования системы крови»).

В среднем в одном эритроците содержится около 30 пг (пикограмм) гемоглобина;

- **Цветовой (цветной) показатель (ЦП)** – расчетный показатель, указывающий на степень насыщения эритроцитов гемоглобином у обследуемого по сравнению с должным (подробнее см. в разделе «Функциональные методы исследования системы крови»).

В норме ЦП составляет 0,85-1,05; степень насыщения эритроцитов гемоглобином может уменьшаться (*гипохромия*) вследствие нарушения синтеза гемоглобина или появления в крови микроцитов; увеличение степени насыщения (*гиперхромия*) сопровождается макроцитозом;

- **средний объем эритроцита (СрОЭ)** – расчетный показатель, указывающий на объем, который занимает эритроцит в исследуемом объеме крови (подробнее см. в разделе «Функциональные методы исследования системы крови»).

В норме СрОЭ составляет 76 – 96 мкм³. Снижение СрОЭ обусловлено наличием в крови микроцитов, повышение наблюдается при появлении макроцитов.

- **концентрация ретикулоцитов** составляет в норме у здорового взрослого человека от 0,2 до 1% (или 2 - 10 ‰ – промилле), а у новорожденного - 1 - 4% (или 10 – 40 ‰); ретикулоциты - это молодые эритроциты, и их концентрация указывает на интенсивность процесса эритропоэза; ретикулоцитоз свидетельствует об усилении эритропоэза, ретикулоцитопения - о его ослаблении;

Мы очень кратко и схематично изложили современное представление об эритроцитарной системе. Лейкоцитарная система, в принципе, имеет подобное строение, но к настоящему времени она изучена еще очень слабо. Вместе с тем она имеет очень большое значение в защитных реакциях организма и совместно с определенными компонентами плазмы крови активно участвует в работе системы иммунитета.

Иммунитет – способность организма защищаться от генетически чужеродных тел и веществ

Подробнее с этим понятием Вы знакомитесь в курсе иммунологии

21. Каковы физиологические свойства лейкоцитов?

Физиологические свойства лейкоцитов имеют ряд особенностей, благодаря которым они осуществляют свои многочисленные функции. К таким особенностям относятся способности к:

- **диapedезу**; то есть лейкоциты могут мигрировать (проникать) из кровеносного русла через стенку капилляра в ткань; некоторые из них могут возвращаться назад в кровеносное русло;

- **амебовидной подвижности**; то есть, проникнув в ткань, лейкоциты способны передвигаются к чужеродному агенту с помощью псевдоподий;

- **фагоцитозу**; то есть, встретив чужеродный агент, лейкоцит способен захватить его и разрушить благодаря своим лизосомальным ферментам;

- **выделению в окружающую среду различных биологически активных веществ**, способных оказывать цитолитическое или угнетающее воздействие

на окружающие его клетки; способные улучшать регенерацию клеток поврежденных тканей, сосудов, самих клеток крови и др.

22. Каковы функции лейкоцитов?

Многочисленные функции лейкоцитов можно систематизировать следующим образом.

Защитная функция. Эта функция в организме человека имеет следующие проявления:

- **фагоцитоз** чужеродных агентов бактериального и небактериального происхождения, а также фрагментов разрушенных клеток тканей, биологически активных веществ и др.

- **бактерицидное и бактериостатическое действие**, то есть способность не только фагоцитировать бактериальные агенты, но и выделять вещества (лизозим, катионные белки и др.), оказывающие разрушающее воздействие на них или приостанавливающее их биологическую активность;

- **противовирусное действие**; многие лейкоциты выделяют вещества (например, **интерферон**), способные противодействовать размножению попавших в организм вирусов;

- **антитоксическое действие**; то есть лейкоциты выделяют вещества, нейтрализующие или разрушающие токсины, выделяемые бактериальными клетками;

- **участие в работе системы РАСК**; то есть некоторые лейкоциты выделяют вещества, оказывающие влияние на скорость процессов гемостаза (ускоряющие или замедляющие процесс свертывания крови).

Регенеративная функция. Эта функция связана с тем, что лейкоциты способны вырабатывать и выделять вещества, ускоряющие регенерацию тканей, стенок сосудов, самих клеток крови. Особенно много подобных веществ выделяется макрофагами (**интерлейкины**).

Транспортная функция. Лейкоциты, как и эритроциты на своей поверхностной мембране имеют массу рецепторов, способных связывать и переносить различные биологически активные вещества из одного участка организма в другой.

23. Какова нормальная концентрация лейкоцитов в крови человека?

Для взрослого человека нормальной считается концентрация лейкоцитов от 4 до 9 Г/л. Для новорожденного приняты за норму более высокие концентрации лейкоцитов (18 - 22 Г/л).

Повышенная по сравнению с нормой концентрация лейкоцитов обозначается термином **лейкоцитоз**. Выделяют два вида лейкоцитоза:

- **физиологический (относительный, перераспределительный)**; его особенностью является кратковременность, сравнительно невысокая степень выраженности; такой лейкоцитоз возникает при мышечной нагрузке, эмоциональном возбуждении, при приеме пищи, при болевом воздействии;

- **патологический (абсолютный, истинный)**; это более выраженные и продолжительные по времени отклонения от нормы, возникающие в орга-

низме при патологических состояниях организма (инфекционных и воспалительных заболеваниях, при травматических повреждениях тканей, нарушениях процессов лейкопоэза).

Понижение концентрации лейкоцитов крови называется *лейкопенией*. Она всегда сигнализирует о неблагополучном состоянии организма, связанном, с врожденным или приобретенным нарушением работы красного костного мозга.

24. Каковы особенности методики определения концентрации лейкоцитов?

Главной особенностью при определении концентрации лейкоцитов методом подсчета их в камере Горяева является то, что взятую порцию крови разводят в 20 раз раствором уксусной кислоты. При этом происходит разрушение мембраны эритроцитов и лейкоцитов, но ядерная мембрана не разрушается и, следовательно, остаются ядра лейкоцитов, подсчет которых ведется в камере Горяева.

Следует иметь в виду, что при резком (патологическом) усилении эритропоэза в кровь могут попасть ядерные формы предшественников эритроцитов! В этом случае данным методом невозможно получить правильное представление о концентрации лейкоцитов в крови, так как вместе с ядрами лейкоцитов будут подсчитываться и ядра клеток эритроидного ряда.

25. Какие разновидности лейкоцитов принято выделять?

Разные виды лейкоцитов различаются по размеру и форме ядра, по наличию зернистости в цитоплазме, по способности лучше окрашиваться теми или иными красителями. Более подробно на этих вопросах мы останавливаться не будем, так как все они рассматриваются в курсе гистологии.

Еще в 19 столетии ученые, изучая лейкоциты, обратили внимание, что у одних видов в цитоплазме имеется зернистость, а у других она отсутствует. С тех пор все виды лейкоциты принято делить на две группы:

- **зернистые (гранулоциты);**
- **незернистые (агранулоциты).**

Среди зернистых форм различают *нейтрофилы, базофилы и эозинофилы*. К незернистым формам относят *лимфоциты и моноциты*.

26. Что называется лейкоцитарной формулой?

Лейкоцитарная формула (или лейкограмма) – это процентное содержание различных форм лейкоцитов (рис.3).

Рис. 3. Лейкоцитарная формула здорового взрослого человека

Нейтрофилы			Базофилы	Эозинофилы	Лимфоциты	Моноциты
Ю	П	С				
0-0,5	1-6	47-72	0-1	1-5	19-37	3-11

Среди нейтрофилов по степени зрелости выделяют три самостоятельные формы: юные (Ю), палочкоядерные (П) и сегментоядерные (С). Изменение процентного соотношения между ними обозначают как *сдвиг лейкоцитарной формулы влево или вправо*.

Сдвиг лейкоцитарной формулы влево фиксируют при увеличении юных и палочкоядерных форм нейтрофилов при одновременном снижении процента сегментоядерных клеток. Такая ситуация свидетельствует об усилении процессов гранулоцитопоэза в красном костном мозге и поэтому такой сдвиг формулы называют *регенеративным*. Подобная картина имеет место при инфекционных или воспалительных заболеваниях. Вместе с тем сдвиг лейкоцитарной формулы влево *является физиологической нормой для новорожденного ребенка!*

Сдвиг лейкоцитарной формулы вправо фиксируют при исчезновении молодых форм (юных и палочкоядерных) нейтрофилов. В такой ситуации в крови преобладают сегментоядерные клетки с большим количеством сегментов (дегенеративные формы). Такой сдвиг называют *арегенеративным*, так как он свидетельствует об угнетении гранулоцитопоэза.

27. Каковы возрастные изменения в лейкоцитарной формуле?

У новорожденного, как мы указывали в ответе на предыдущий вопрос, в норме имеет место сдвиг лейкограммы влево. При этом процентное соотношение различных форм лейкоцитов мало чем отличается от такового у взрослого человека. При этом в крови преобладают нейтрофилы (до 70%), а содержание лимфоцитов держится на уровне 20% (рис.4).

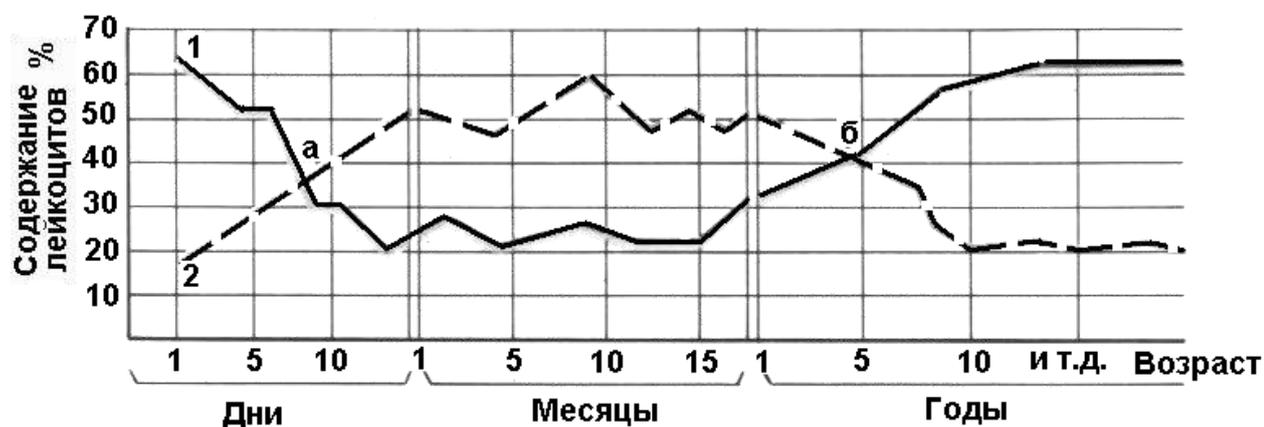


Рис. 4. Динамика изменений содержания нейтрофилов и лимфоцитов в постнатальном онтогенезе

1^й (а) и 2^й (б) физиологические перекресты: 1 – процентное содержание нейтрофилов; 2 – процентное содержание лимфоцитов

В течение первых дней жизни содержание лимфоцитов начинает резко возрастать, а содержание нейтрофилов соответственно снижаться, и уже к 4-6 дню жизни их концентрация в крови ребенка уравнивается на уровне 40-45%. Это называется *первым физиологическим перекрестом*. После 5-6 дня жизни содержание лимфоцитов в крови продолжает нарастать, а нейтрофи-

лов уменьшаться и наиболее ярко выраженными эти отклонения становятся в возрасте от 3 месяцев до 1 года. Количественное преимущество лимфоцитов сохраняется первые 3-4 года жизни, но к 4-5 году жизни постепенно снижается (в это время содержание нейтрофилов нарастает!) и уравнивается с концентрацией нейтрофилов на уровне 40-45%. Это называется **вторым физиологическим перекрестом**. Далее постепенно содержание нейтрофилов продолжает нарастать, а лимфоцитов снижаться и к 13-15 годам соотношение между нейтрофилами и лимфоцитами становится таким же, как у взрослого.

28. Каковы функциональные особенности гранулоцитов?

Зрелые гранулоциты задерживаются в синусах красного костного мозга до 3-4 суток и представляют собой депо нейтрофилов, базофилов и эозинофилов (здесь их в 15-20 раз больше, чем в циркулирующей крови). Эти клетки принимают активное участие в перераспределительных реакциях лейкоцитов в организме. В кровеносном русле гранулоциты циркулируют 4-8 часов, после чего переходят в ткань, в слизистые оболочки, где превращаются в макрофаги и осуществляют свою функцию, погибая в течение 4-5 дней (в кровеносное русло они, как и все гранулоциты не возвращаются).

Имея сходные характеристики своего жизненного цикла, все гранулоциты имеют определенные функциональные особенности.

Нейтрофилы в процессе метаболизма способны получать энергию за счет анаэробного гликолиза, что позволяет им реализовывать свои функции при весьма неблагоприятных условиях (при нарушении кровообращения в отечной воспаленной ткани). В гранулах нейтрофилов продуцируются очень важные гуморальные факторы, обеспечивающие неспецифическую защиту организма (лизозим, комплемент, лактоферрин, интерферон и др.). Важно отметить, что нейтрофилы, продуцируя лизосомальные ферменты, выделяют их в окружающую среду и оказывают бактериостатический и бактерицидный эффекты.

Нейтрофилы первыми проникают в очаг повреждения благодаря хорошо выраженной двигательной активности и активно участвуют в реакциях фагоцитоза.

Базофилы, как и все гранулоциты, обладают фагоцитарной активностью, синтезируют и выделяют бактериостатические и бактериолитические вещества. Выходя в ткань, они превращаются в тучные клетки, которые, как и базофилы, содержат в своих гранулах *гистамин* и *гепарин*. Эти два вещества выполняют важную дренажную функцию в очаге воспаления, препятствуя застою крови (гепарин – антикоагулянт, гистамин сосудорасширяющее вещество). Базофилы активно участвуют не только в воспалительных, но и в аллергических реакциях.

Эозинофилы. Их концентрация возрастает при аллергических и аутоиммунных заболеваниях, при глистных инвазиях. Выйдя за пределы кровеносного русла, эозинофилы концентрируются в основном в подслизистом слое желудочно-кишечного тракта. Они обладают способностью фагоцитировать гистамин, выделяют вещества, угнетающие его синтез базофилами и

тучными клетками. В эозинофилах содержится фермент гистаминаза, способствующий инаktivации фагоцитированного гистамина. Поэтому концентрация эозинофилов всегда повышается при внедрении в организм чужеродного белка, при всевозможных аллергических состояниях, при глистных инвазиях. Участвуют они и в других физиологических процессах, в частности в синтезе плазминогена.

29. Каковы функциональные особенности моноцитов?

Моноциты – это самые крупные клетки крови и принимают активное участие в защитных реакциях организма. Особенностью их жизненного цикла является то, что, выйдя из кровеносного русла в ткань, они могут находиться там несколько месяцев (по некоторым данным даже несколько лет), сохраняя способность к рециркуляции (возврату в кровяное русло). В ткани моноциты превращаются в тканевые макрофаги, где и выполняют свои основные функции.

Моноциты обладают многочисленными функциями и участвуют в самых различных физиологических процессах:

- обладают выраженной фагоцитарной активностью, но выходят в очаг воспаления после гранулоцитов, фактически завершают как уничтожение микроорганизмов, так и погибших гранулоцитов;
- вырабатывают различные бактериостатические, бактериолитические и противовирусные агенты, выделяемые ими непосредственно в ткань;
- способны распознавать и запоминать чужеродные агенты и вместе с лимфоцитами участвовать в реакциях иммунитета;
- синтезируют факторы, усиливающие дифференцировку других клеточных элементов крови (гранулоцитов, лимфоцитов, эритроцитов);
- участвуют в процессе гемостаза и фибринолиза;
- вырабатывают факторы, усиливающие регенерацию поврежденных тканей и стенок сосудов (фактор роста миоцитов сосудов)
- способны при фагоцитозе продуцировать эндогенный пироген – белок, который совместно с простагландинами крови действует на терморегулирующий центр гипоталамуса, в результате чего температура тела при инфекциях повышается.

30. Каковы функциональные особенности лимфоцитов?

Лимфоциты, как и все клеточные элементы крови, вырабатываются в красном костном мозге и являются основным звеном иммунитета. Дифференцировка лимфоцитов происходит в центральных лимфоидных органах: в тимусе (зобной железе) и в лимфоидной ткани, располагающейся по ходу пищеварительного тракта, а затем они расселяются в периферических лимфоидных органах (лимфатических узлах, селезенке). Популяция лимфоцитов, проходящих дифференцировку в тимусе, в последующем называется **T-лимфоцитами**. Среди них различают несколько категорий, каждая из которых выполняет определенную функцию. Например:

- *T-киллеры* подвергают лизису клетки бактерий, опухолевые клетки или клетки, попавшие из другого организма (трансплантаты);
- *T-хелперы* участвуют в трансформации В-лимфоцитов в плазматические клетки;
- *T-амплифайеры* активируют иммунный ответ в пределах системы Т-лимфоцитов;
- *T-супрессоры* подавляют иммунный ответ на антигены, в частности на антигены собственного организма;
- *клетки памяти* – «запоминают» те антигены, которые ранее попали в организм, и при повторном их внедрении участвуют в организации иммунного ответа на них.

Популяция лимфоцитов, прошедших дифференцировку в лимфоидной ткани пищеварительного тракта, в последующем называются ***В-лимфоциты***. Основная их задача – обеспечение гуморального иммунитета. С помощью Т-лимфоцитов и макрофагов В-лимфоциты превращаются в плазматические клетки, продуцирующие антитела (специфические и неспецифические иммуноглобулины). Вместе с тем среди лимфоцитов выделяют:

- *В-супрессоры*, подавляющие иммунную реакцию;
- *В-киллеры*, которые подобно Т-киллерам лизируют (разрушают) бактериальные агенты;
- *В-клетки иммунной памяти*, запоминающие чужеродный антиген.

Различают и другие лимфоциты, с ними Вы подробнее познакомитесь в курсе иммунологии.

В данных разработках мы не затрагиваем вопросы о характеристике состава плазмы крови, так как они находятся в поле зрения биологической химии. В частности, известно, что при различных воспалительных и инфекционных заболеваниях возрастает концентрация антител (иммуноглобулинов), являющихся одним из звеньев системы иммунитета.

Одним из показателей, характеризующих состояние защитных сил организма, является СОЭ (скорость оседания эритроцитов).

31. Как проводится исследование СОЭ, и каково клиническое значение этого метода?

При исследовании СОЭ надо соблюдать несколько правил:

- во-первых, взятую порцию крови (подробности методики изложены в разделе «Функциональные методы исследования системы крови») следует разбавить раствором цитрата натрия *в соотношении 4:1*. Цитрат натрия выполняет две функции: является антикоагулянтом и разбавляет кровь, создавая лучшие условия для оседания эритроцитов (снижается вязкость крови);
- во-вторых, капилляр Панченкова с забранной в него разведенной кровью следует поставить ровно на 1 час в штатив Панченкова *в строго вертикальном положении!* (следует помнить, что за рубежом для постановки этой пробы используются капилляры других размеров, что, однако, не меняет

сути методики). При малейшем наклоне капилляра скорость оседания эритроцитов увеличивается, так как для этого создаются более благоприятные условия. Через час измеряют в миллиметрах столбик разведенной плазмы над осевшими эритроцитами.

В норме у взрослого человека СОЭ составляет от 1-15 мм/ч (у новорожденного 1-2 мм/ч). Увеличение СОЭ отмечается при инфекционных и воспалительных заболеваниях, при беременности и других состояниях, когда в плазме крови увеличивается содержание грубодисперсных белков (фибриногена, С-реактивного белка и γ -глобулинов). Эти белки оседают на поверхности эритроцитов (в норме поверхность эритроцитов и других клеточных элементов крови имеет отрицательный заряд!) и нейтрализуют отрицательный заряд эритроцитов, тем самым, способствуя образованию клеточных комплексов («монетных столбиков»). Более тяжелые комплексы эритроцитов быстрее оседают, и СОЭ ускоряется.

При оценке СОЭ всегда следует иметь в виду, что эритроциты будут оседать тем быстрее, чем меньше их концентрация в крови. То есть при эритропении, даже при нормальной концентрации грубодисперсных белков, СОЭ будет ускорена!

Мы рассмотрели в самых общих чертах защитные свойства крови, обусловленные функционированием лейкоцитов. В настоящих разработках, как уже было сказано, мы практически не касаемся многочисленных защитных свойств плазмы крови, чрезвычайно важных в системе иммунитета. Однако в последующих вопросах мы рассмотрим роль отдельных компонентов плазмы крови в системе РАСК.

32. Что называется системой РАСК?

Система РАСК – это система регуляции агрегатного состояния крови. В некоторых источниках информации ее называют *системой гемостаза*. Система РАСК выполняет в здоровом организме следующие основные задачи:

- поддерживает жидкое состояние крови, что необходимо для выполнения ее функций;
- в случае необходимости, при повреждении сосуда, обеспечивает остановку кровотечения, то есть гемостаз;
- обеспечивает реканализацию поврежденного сосуда, то есть восстановление его стенки и нормального продвижения крови по сосуду; одновременно осуществляется регенерация окружающих тканей.

33. Каким образом достигается поддержание жидкого состояния крови?

Жидкое (текущее) состояние крови возможно благодаря нескольким факторам, совокупность и взаимодействие которых иногда объединяют в систему. Такую систему называют **противосвертывающей** или **антисвертывающей**. Компонентами (элементами) такой системы являются:

1) **эндотелиальные клетки сосудов**, к особенностям которых относятся:

- *идеально гладкая поверхность*, не создающая помех для протекающих элементов крови;

- наличие отрицательного заряда на поверхностной клеточной мембране, что препятствует их контакту с клетками крови, поверхность которых также имеет отрицательный заряд;

- способность синтезировать и выделять в кровь **простациклин** – **ингибитор агрегации тромбоцитов** (агрегация – слипание тромбоцитов друг с другом);

- способность синтезировать и выделять в кровь **тканевой активатор плазминогена** (см. вопрос 40);

- способность адсорбировать на своей поверхности комплекс **гепарин-антитромбин III**, препятствующий свертыванию крови;

- способность фагоцитировать активированные факторы свертывания крови.

2) **антикоагулянты**, среди которых различают:

- **первичные** – они постоянно находятся в крови и препятствуют свертыванию крови; среди них наиболее активен **антитромбин III**, синтезируемый эндотелиоцитами и **гепарин**, который поступает в кровь из печени, тучных клеток и базофилов;

- **вторичные** – они образуются и появляются в крови в процессе свертывания крови; к ним, например, относится фибрин и продукты его разрушения, на которых адсорбируется тромбин (что замедляет свертывание крови).

3) **клетки и ткани, синтезирующие и выделяющие антикоагулянты в кровь**; к ним относятся названные выше печень, эндотелиоциты, тучные клетки, базофилы и другие клеточные элементы.

4) **аппарат нервно-гуморальной регуляции**, контролирующей выход антикоагулянтов в кровь. В частности, известно, что в эксперименте, при внутривенном введении животному тромбина в предварительно денервированную конечность, коагуляция (свертывание крови) в этой конечности происходит значительно быстрее, чем в интактной (в той, которая не была денервирована).

34. Каким образом обеспечивается гемостаз?

Различают два вида гемостаза в зависимости от места его возникновения и качества образовавшегося тромба:

1) **сосудисто-тромбоцитарный гемостаз**, преимущественно происходит в сосудах микроциркуляторного русла, где относительно низкое кровяное давление и небольшая скорость движения крови; поэтому для остановки кровотечения в таких сосудах достаточно тромбоцитарного тромба;

2) **коагуляционный гемостаз**, преимущественно осуществляется в крупных сосудах, где относительно высокое кровяное давление и высокая скорость кровотока. В таких сосудах тромбоцитарный тромб не может обеспечить остановку кровотечения и в этом случае формируется более мощный тромб, состоящий из сети волокон фибрина и застрявших в них форменных элементов крови.

Однако следует иметь в виду, что при кровотечении из любого сосуда в той или иной мере проявляются оба вида гемостаза.

Обращаем Ваше внимание на то, что с целью некоторого упрощения изложения учебного материала в дальнейшем, отвечая на вопросы по гемостазу, мы будем упоминать лишь некоторые плазменные и тромбоцитарные факторы, не приводя в тексте их полный список.

Перечень всех плазменных (обозначаются римскими цифрами) и тромбоцитарных (обозначаются арабскими цифрами) факторов приводится в любом учебнике или пособии по нормальной физиологии. Например: фактор I – тромбопластин (плазменный фактор); P₆ – тромбостенин (тромбоцитарный фактор).

35. Каков механизм сосудисто-тромбоцитарного гемостаза?

Повреждение мелких сосудов влечет за собой развитие целого ряда реакций, как на уровне целостного организма, так и на местном уровне, протекающие в определенной последовательности и приводящие к остановке кровотечения. Эта последовательность реакций может быть представлена следующим образом.

1) Рефлекторный спазм (сужение) сосуда; происходит потому, что повреждение ткани приводит к раздражению ноциререпторов (болевых рецепторов). В ответ на это активируется симпатический отдел вегетативной нервной системы и происходит рефлекторное сужение сосудов (*прежде всего в области повреждения!*).

2) Адгезия тромбоцитов на поврежденной стенке сосудов, которой способствуют некоторые факторы. Во-первых, при повреждении сосуда изменяется заряд (отрицательный на положительный) на его интима. При этом тромбоциты, имеющие на своей поверхности отрицательный заряд, прилипают к сосуду за счет сил электростатического взаимодействия. Во-вторых, при повреждении тканей обнажается коллаген, и из эндотелия поврежденного сосуда выделяется фактор Виллебранда (гликопротеид), к которым своими рецепторами прилипают тромбоциты, что способствует их адгезии на стенке сосуда.

3) Агрегация тромбоцитов – это процесс склеивания тромбоцитов друг с другом. Он осуществляется в 2 фазы: обратимая и необратимая агрегация:

- *обратимая агрегация* вызывается целым рядом веществ: АДФ, тромбоксан А₂, серотонин (выделяются из тромбоцитов), ФАТ (фактор агрегации тромбоцитов, освобождающийся из самих тромбоцитов, лейкоцитов, эндотелиоцитов) и др. При этом образуются комплексы соединившихся друг с другом тромбоцитов, но еще способных разъединиться;

- *необратимая агрегация* – постепенно мембрана тромбоцитов истончается, они разрушаются и образуют гомогенную массу. Этот процесс называют еще *вязким метаморфозом*. Основными стимуляторами данного

этапа являются *тромбин* (синтезируется в реакциях параллельно протекающего коагуляционного гемостаза), ионы Ca^{2+} и тромбоксан A_2 .

Выделяющиеся при разрушении тромбоцитов тромбоцитарные факторы, запускают процесс свертывания крови, в результате которого образуются нити фибрина, оплетающие разрушенные тромбоциты.

4) Вторичный спазм сосудов. При разрушении тромбоцитов из их гранул и с поверхности мембраны освобождается целый ряд сосудосуживающих факторов (тромбоксан, серотонин, адреналин), которые усиливают местный спазм сосудов и тем самым уменьшают кровопотерю.

5) Образование тромба. Гомогенная масса разрушенных тромбоцитов закрывает поврежденную стенку сосуда, а часто даже полностью закупоривает весь просвет сосуда (или нескольких мелких сосудов) и кровотечение прекращается.

б) Ретракция тромба – это уплотнение тромба за счет выделяющегося из разрушенных тромбоцитов тромбостенина (ретрактоэнзима). Тромбостенин (P_6) подобен актиновым и миозиновым волокнам и в присутствии ионов кальция сокращается, в результате чего тромб уплотняется и плотно закрепляется в сосуде (это препятствует вымыванию тромба из сосуда при усилении кровотока или повышении АД).

36. Каков механизм коагуляционного гемостаза?

В коагуляционном гемостазе выделяют несколько стадий.

I стадия. Результатом этой фазы является образование *протромбиназного комплекса (протромбиназы)*. Подробнее эта и последующие фазы будет рассмотрены в ответах на вопросы 37-41.

II стадия. Под воздействием протромбиназы белок плазмы *протромбин переходит в тромбин*.

III стадия. Под воздействием тромбина *растворимый белок плазмы крови фибриноген переходит в нерастворимый фибрин*. Из нитей фибрина образуется сеть, являющаяся основой формирования тромба.

IV стадия. Это *ретракция* (уплотнение) тромба (в специальной литературе эту и последующую фазы иногда называют *послефаза*).

V стадия. *Фибринолиз* и восстановление стенки сосуда.

37. Каков механизм I стадии коагуляционного гемостаза?

I стадия коагуляционного гемостаза – образование протромбиназы (протромбиназного комплекса). Она протекает сложно и состоит из двух дублирующих друг друга механизмов: *внешнего и внутреннего*.

Внешний механизм протекает достаточно быстро (5-10 сек). При повреждении ткани и стенки сосудов из разрушенных клеток выделяется *тканевой тромбопластин* (фосфолипидные обломки разрушенных клеточных мембран). Попав в кровь, тромбопластин сразу же соединяется с VII фактором плазмы крови (проконвертином) и формирует комплекс, который в присутствии ионов Ca^{2+} активизирует трансформацию неактивного фактора X в

активную форму Ха. В присутствии V фактора плазмы крови (проакцелерина) образуется готовый продукт I стадии – **протромбиназа (протромбиназный комплекс)**.

Внутренний механизм протекает значительно дольше внешнего (5 - 10 мин.). При повреждении стенки сосуда обнажаются коллагеновые и эластические волокна, и меняется заряд на внутренней поверхности сосуда. Это способствует **активации XII фактора** (фактор Хагемана или *контактный*). Активация его происходит в присутствии калликреина и кининогена, которые выделяются из разрушенных тканей. Участвует в этом процессе и фактор P₃ (тромбоцитарный тромбопластин). В результате образуется активный фактор **XIIa**. С этого начинается **каскад биохимических реакций**, приводящих, в конце концов, к образованию **протромбиназного комплекса** (рис. 5).

38. Каков механизм II стадии коагуляционного гемостаза?

II стадия – образование тромбина протекает практически мгновенно (2-5 с). Образовавшийся протромбиназный комплекс воздействует на белок плазмы крови **протромбин (фактор II)** и в присутствии ионов кальция переводит его в **тромбин**.

39. Каков механизм III стадии коагуляционного гемостаза?

III стадия – образование фибрина протекает в три этапа. Это ключевая стадия коагуляционного гемостаза, так как **растворимый в плазме белок фибриноген переходит в нерастворимый фибрин**. То есть возникает **материальная основа для формирования тромба!**

Первый этап. Образуется фибрин-мономер.

Второй этап. В присутствии ионов Ca²⁺ происходит **полимеризация фибрина-мономера в фибрин-полимер (фибрин S)**, то есть образование нитей фибрина. Из нитей фибрина, расположенных хаотично, формируется сеть, в которой застревают форменные элементы крови, и формируется тромб. Фибрин S еще способен растворяться (в частности под влиянием **плазмина**) и образовавшийся тромб может еще разрушиться (в настоящее время это используют в клинике, например, вводя фибринолитические препараты на ранних стадиях инфаркта миокарда и, тем самым, спасая больного от смерти).

Третий этап. Под действием **фибринстабилизирующего фактора (фибриназа, фактор XIII)** фибрин S переходит в нерастворимое состояние – **фибрин I**. Благодаря этому образовавшийся тромб лучше закрепляется в стенке поврежденного сосуда и становится устойчивым к действию фибринолитических агентов.

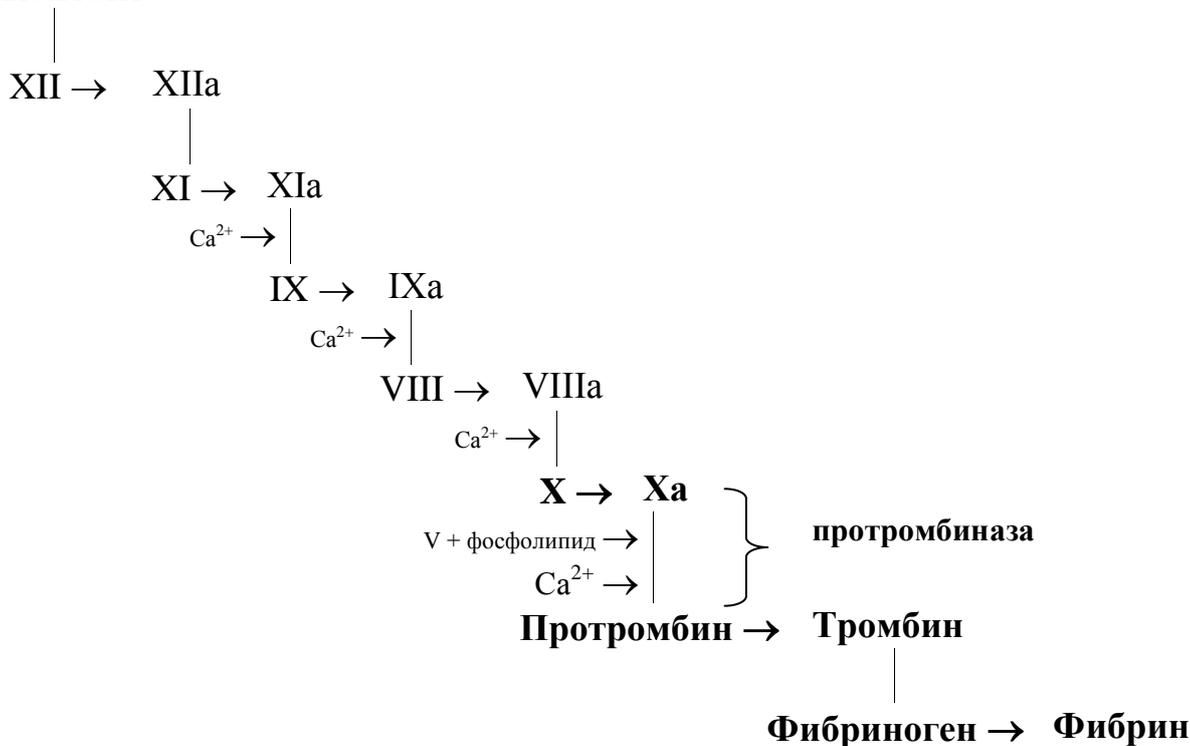
Благодаря описанным механизмам происходит остановка кровотечения. Но сформированный тромб еще довольно рыхлый и при повышении кровяного давления может оторваться и тогда возникнет повторное кровотечение. Чтобы тромб прочно «сидел» в поврежденном сосуде происходит его

ретракция. Этот процесс протекает практически также как в сосудисто-тромбоцитарном гемостазе (см. вопрос 35).

Далее идет процесс фибринолиза и восстановление стенки поврежденного сосуда.

Внутренний механизм

Контакт



Внешний механизм

Тканевой

Тромбопластин

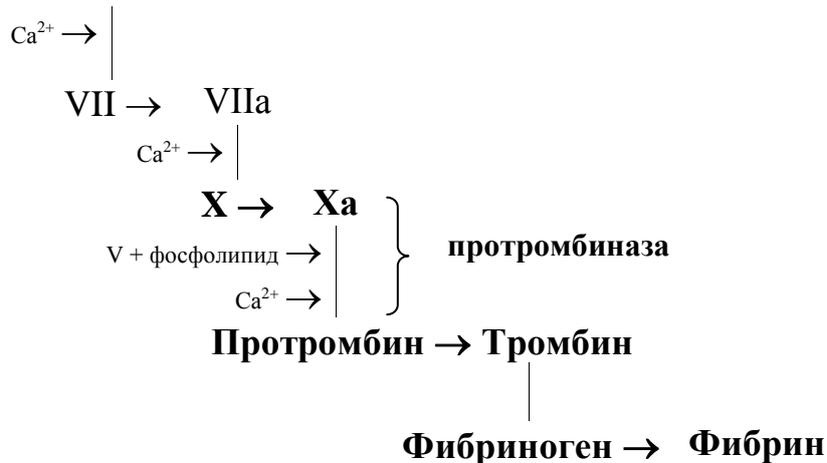


Рис. 5. Внешний и внутренний механизмы образования коагуляционного гемостаза

В норме у здорового человека даже без повреждения стенки сосуда

постоянно происходит образование небольшого количества фибрина. Этот процесс протекает хотя бы потому, что фактор Хагемана активируется присутствующим в крови адреналином. Чтобы не произошло внутрисосудистого свертывания крови, образование фибрина должно быть уравновешено процессом фибринолиза!

40. В чем заключается смысл процесса фибринолиза и каковы его механизмы?

Фибринолиз – это ферментативное расщепление нитей фибрина, в результате чего происходит восстановление просвета сосуда.

В несколько упрощенном виде этот процесс можно представить в виде двух фаз (рис. 6).

Первая фаза осуществляется с помощью двух механизмов: внешнего и внутреннего и заключается в активации процесса фибринолиза путем перевода белка плазмы крови **плазминогена (профибринолизина) в плазмин (фибринолизин)**.

Внешний механизм инициируется тканевыми активаторами плазминогена (сериновые протеазы, урокиназа, фосфатазы и др.), выделяющимися из эндотелия сосудов и разрушенных тканей.

Внутренний механизм начинается с активации контактного фактора Хагемана (**XII → XIIa**), который в присутствии калликреина, высокомолекулярного кининогена (ВМК) и фактора Виллебранда эндотелиальных клеток активирует плазминоген и переводит его в плазмин.

Вторая фаза. Под влиянием плазмина **фибрин подвергается расщеплению до полипептидов и аминокислот**. В результате этого тромб распадается, а форменные элементы, находившиеся в его составе, захватываются макрофагами.

Процесс фибринолиза может быть активирован и другими факторами. Например, мощными активаторами плазминогена являются трипсин и стрептокиназа, выделяемая стрептококками. Непосредственно разрушают нити фибрина протеазы, выделяемые гранулоцитами. По-видимому, это имеет важное биологическое значение: *при воспалении отежные ткани, сдавливая мелкие сосуды, создают в них условия для свертывания крови, но, сопутствующий воспалению гранулоцитоз, препятствует этому.*



Рис. 6. Схема процесса фибринолиза

Однако в организме человека существуют механизмы, ограничивающие процесс фибринолиза. Так, выделяют антиплазмины двух видов:

- тормозящие переход плазминогена в плазмин;
- тормозящие действие плазима на фибрин.

Продукты деградации (распада) фибрина обладают выраженным противосвертывающим эффектом (ингибируют тромбин, тормозят образование протромбиназы, подавляют полимеризацию фибрина-мономера, уменьшают выраженность процессов адгезии и агрегации тромбоцитов).

Одновременно с процессом фибринолиза идет **процесс восстановления стенки сосуда**. Это два неразрывно связанных друг с другом процесса. Если процесс регенерации стенки сосуда задерживается, то фибринолиз может привести к повторному кровотечению. Если процессы регенерации опережают фибринолиз, то соединительнотканые элементы прорастают в тромб и тогда реканализация сосуда становится невозможной. В подобных случаях производится хирургическая резекция участка сосуда вместе с тромбом с последующей пластикой сосуда.

Таким образом, при травме сосуда одновременно запускаются механизмы коагуляционного гемостаза и механизмы фибринолиза. Это, безусловно, имеет определенный физиологический смысл. Процессы фибринолиза с самого начала коагуляционного гемостаза как бы ограничивают очаг и размеры формируемого тромба!

Группы крови. Переливание крови.

41. На каком основании выделяются различные группы крови?

В начале прошлого столетия К.Ландштейнер и Я.Янский установили наличие в эритроцитах человека особых антигенов (**агглютиногенов**). *Агглютиногены – это высокомолекулярные полимеры (полисахаридно-аминокислотные комплексы), входящие в структуру поверхностной мембраны клетки. Углеводы, составляющие до 75% массы этих полимеров, определяют их специфичность.* Наличие этих веществ характерно для каждого человека, не меняется в течение жизни и передается по наследству по законам генетики. В присутствии агглютиногенов смешивание крови разных людей приводит к **агглютинации** (склеиванию) эритроцитов. Этот факт позволил предположить, что в плазме крови людей находятся вещества (**агглютинины**), способствующие реакции агглютинации. Выяснилось, что *агглютинины – это белки плазмы крови – антитела, относящиеся к классу иммуноглобулинов.* Комбинация некоторых агглютиногенов и агглютининов при их встрече (сочетании) приводит к агглютинации эритроцитов (такую комбинацию называют **одноименными агглютиногенами и агглютининами**).

Агглютинины могут быть *естественными* и *иммунными*. Естественные антитела – это врожденные, то есть характерные для данной группы (но они

появляются после рождения!). Иммунные (изоиммунные) антитела появляются в различные периоды жизни в ответ на попадание в организм чужеродного агглютиногена.

В крови различных людей содержатся разные агглютиногены (или разные комбинации агглютиногенов) и агглютинины. **В зависимости от наличия в крови тех или иных агглютиногенов** (а значит, и агглютининов) **выделяют различные группы крови**. У людей выделяют более 400 разновидностей агглютиногенов (изоантигенов), которые объединяются в различные антигенные системы. Наиболее известными, имеющими важнейшее практическое значение, являются *системы АВО* и *система Rh (резус)*.

42. Каково практическое значение выявления групповой принадлежности человека?

Практическое значение выявления групповой принадлежности вытекает из следующих основных положений:

- у каждого человека существует свой «набор» антигенов, определяющих его группу крови, которая не изменяется в течение всей жизни;
- «набор» антигенов (группа крови) индивидуума складывается по законам генетики из «набора» антигенов родителей;
- при «встрече» одноименных агглютиногенов и агглютининов происходит их взаимодействие, в результате чего эритроциты, на которых располагаются агглютиногены, склеиваются друг с другом, то есть происходит реакция агглютинации.

Исходя из этого, практическую значимость выявления групповой принадлежности можно сформулировать следующим образом:

1. *Идентификация личности*. В практике судебной медицины приходится опознавать личность жертвы или преступника, устанавливать степень родства между различными людьми и др.

2. *Трансплантация органов и тканей (в частности – переливание крови)*. При трансплантации органа или ткани из одного организма в другой всегда в той или иной степени возникает проблема несовместимости, и возникают иммунные реакции, направленные на отторжение чужеродной ткани. Чтобы снизить выраженность этих реакций проводят тщательный подбор донора к конкретному реципиенту (донор и реципиент должны иметь одинаковый набор основных антигенов, как по системам АВО и резус, так и по другим системам агглютиногенов).

43. Что собой представляет система АВО?

В англоязычной медицинской литературе принято называть эту группу по буквам «А», «В», «О» (АВО). В русскоязычной литературе эту группу называют АВ0 (А, В, ноль).

В этой системе выделяют агглютиногены А и В, обладающие хорошо выраженными антигенными свойствами. В плазме крови людей по этой системе имеются одноименные к антигенам агглютинины α и β . Таким образом, в этой системе есть две комбинации одноименных агглютиногенов и агглю-

тининов: *A* и α ; *B* и β . Однако в этой системе есть еще один антиген, который обозначают как антиген «Н» или антиген «О», обладающий очень слабыми антигенными свойствами и, поэтому, не учитывающийся на практике.

В системе АВО (или АВ0) выделяют 4 группы крови, обозначаемые буквами: О, А, В, АВ (ранее они обозначались римскими цифрами I, II, III, IV). В настоящее время наряду с буквенным обозначением групп крови в скобках указывают ее цифровое значение.

Группа О $\alpha\beta$ (I). Это одна из наиболее распространенных групп крови (более 32 -34% населения земного шара имеет такую группу крови). В эритроцитах людей этой группы крови нет антигенов «А» и «В», но есть антиген «О». Поэтому в англоязычной литературе эту группу называют - группа «О» (*по названию буквы*). В русскоязычной литературе первую группу называют «нулевой», так как в ее эритроцитах отсутствуют два важных агглютиногена А и В. В плазме крови этих людей содержатся оба агглютинина α и β .

Группа А β (II). Эту группа крови имеют около 40% населения земного шара. В эритроцитах этих людей содержится агглютиноген А, а в плазме агглютинин β .

Группа В α (III). Среди населения эта группа встречается у 20% населения. В эритроцитах этих людей содержится агглютиноген В, а в плазме – агглютинин α .

Группа АВ (IV). Это наиболее редко встречающаяся группа крови (6 - 8%). Однако среди коренного населения Азии и Африки ее распространенность достигает 14-18%. В эритроцитах этих людей содержатся оба агглютиногена А и В, но зато в плазме крови нет агглютининов α и β .

44. Каковы теоретические обоснования методики определения группы крови?

В настоящее время в практике здравоохранения существует две основные методики определения групповой принадлежности исследуемой крови:

- с помощью стандартных сывороток;
- с помощью моноклональных антител (целиклонов).

Стандартная сыворотка готовится в специальных заводских условиях. Она содержит строго специфические естественные агглютинины в строго определенной концентрации (для разных стандартных сывороток титр антител составляет 1:16 или 1:32). Концентрация антител не должна быть ниже должной (обозначается на ампуле)! Если концентрация антител будет меньше должной, то при их встрече с одноименными агглютиногенами реакция агглютинации может не произойти. Это, в свою очередь, повлечет за собой ошибку в определении группы крови.

Следует помнить, что с помощью агглютинина α мы ищем в исследуемой крови агглютиноген А, а с помощью агглютинина β – агглютиноген В. Если агглютинация происходит, это означает, что обнаружен одноименный антителу α или β агглютиноген А или В. Если реакция агглютинации не выявлена, это означает, что соответствующие агглютиногены не обнаружены!

Цоликлоны – это искусственные моноклональные антитела, относящиеся к одному классу иммуноглобулинов (Ig M). Эти антитела полностью идентичны по структуре и биологической активности, созданы методом генной инженерии, что исключает возможность заражения человека патогенными вирусами. Различают цоликлоны, имеющие сродство к различным агглютиногенам: «анти-А», «анти-В», «анти-Д» и др.

В присутствии одноименных агглютиногенов эти антитела дают реакцию агглютинации. Например, цоликлоны «анти-А», встречаясь с агглютиногеном А, дают реакцию агглютинации, подобно агглютиницам α.

45. Каков алгоритм рассуждений при определении группы крови?

Не обсуждая саму методику определения группы крови (она изложена в разделе «Функциональные методы исследования системы крови») разберем на конкретном примере алгоритм (последовательность) рассуждений при анализе результата проведенной пробы. На рис. 7 представлены все возможные варианты окончательного результата трехкапельной пробы. Кружочками обозначены стандартные сыворотки следующих групп крови: 0, А и В (используют стандартные сыворотки двух различных серий). В каждую из них была добавлена исследуемая кровь. Рассмотрим пробу №2: значком (+) обозначена агглютинация, а значком (-) отсутствие агглютинации.

Стандартная сыворотка группы:

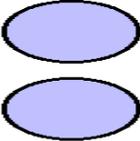
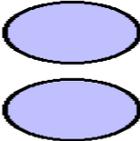
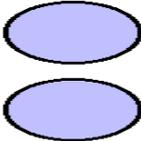
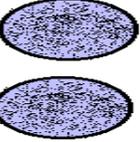
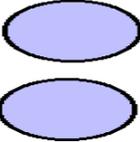
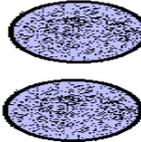
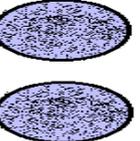
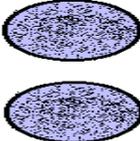
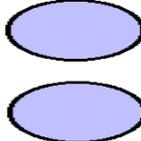
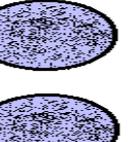
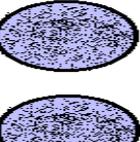
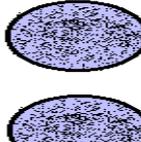
	O_{αβ}	A_β	B_α	Группа крови
1				O
2	 +	 -	 +	A
3				B
4				AB

Рис. 7. Результат проведенной трехкапельной пробы

Ход рассуждений. Для лучшего понимания смысла трехкапельной пробы начнем ее анализ с результата третьей капли, где исследуемая кровь смешана со стандартной сывороткой группы крови В, в которой находятся антигена α . Если в этой капле происходит агглютинация исследуемых эритроцитов, то это означает, что в них находится агглютиноген А (если бы агглютинация отсутствовала, то это свидетельствовало бы об отсутствии в исследуемой крови агглютиногена А).

Во второй капле, где находится стандартная сыворотка группы крови А, содержащая агглютинины β , агглютинация не произошла. На основании этого мы делаем вывод, что в исследуемой крови нет агглютиногена В. Таким образом, уже по результатам двух исследований (2-я и 3-я капли) можно предположить, что исследуемая кровь относится к группе $A\beta(II)$. Однако для исключения ошибки (*ошибка может быть связана с возможностью ложной агглютинации или, наоборот, с ее отсутствием из-за слабой активности стандартной сыворотки*) обязательно проводят контрольное исследование крови, смешивая ее со стандартной сывороткой группы крови $0\alpha\beta(I)$. Если исследуемая кровь действительно относится к группе А, то и в первой капле будет агглютинация, так как в этой стандартной сыворотке содержатся оба агглютинина (α и β). Если же агглютинация в первой капле не произойдет, то этот результат будет противоречить пробе со стандартной сывороткой группы крови В. *В таком случае результат трехкапельной пробы следует считать неправильным и необходимо повторить определение группы крови с другими (свежими) стандартными сыворотками.*

Пользуясь выше приведенным алгоритмом можно определить любую группу крови. Однако при определении группы $AB(IV)$ необходимо дополнительное исследование крови с использованием стандартной сыворотки группы крови $AB(IV)$

46. В чем заключается особенность проведения трехкапельной пробы по определению группы крови $AB(IV)$?

Исходя из выше описанного алгоритма, становится понятным, что принадлежность исследуемой крови к группе $AB(IV)$ мы можем предположить только в том случае, если во всех трех стандартных сыворотках будет обнаружена агглютинация, подтверждающая наличие в исследуемой крови агглютиногенов А и В. Но в этом случае следует *обязательно (!)* исключить возможность ложной агглютинации (*панагглютинации*), причиной которой может стать низкое качество сывороток, грязная посуда, наличие электрических полей от рядом расположенных приборов и др. Для этого исследуемую кровь смешивают в тех же пропорциях со стандартной сывороткой группы крови $AB(IV)$, в которой нет агглютининов α и β . Если исследуемая кровь действительно относится к группе $AB(IV)$, то в этой капле агглютинации быть не должно! Если же и в этой капле происходит агглютинация, то результат этой пробы нельзя учитывать и пробу необходимо повторить!

47. Что собой представляет система агглютиногенов резус (Rh)?

В системе агглютиногенов резус (Rh) насчитывается 6 антигенов: D, E, C, d, e, c. Антигенные свойства большинства из них, за исключением агглютиногена D, выражены слабо. Поэтому всех людей делят на резус-положительных, эритроциты которых содержат агглютиноген D, и резус-отрицательных, эритроциты которых не содержат агглютиноген D, хотя могут содержать другие антигены этой системы в любой комбинации. Среди населения земного шара значительно больше резус-положительных (около 85%). Но распределение их по континентам неравномерно. Практически все население Азии и Африки относится к резус-положительным.

Особенностью системы резус является отсутствие в плазме крови естественных антител к агглютиногенам этой системы и, в частности, к агглютиногену D. Однако при определенной ситуации в плазме крови могут появиться **иммунные анти-D агглютинины**. Например, если при переливании крови в организм резус-отрицательного человека попадает **резус фактор** (агглютиноген D), то в ответ на это система иммунитета начинает продуцировать иммунные антитела, которые могут достаточно долго (до 20 лет!) обнаруживаться в его крови. Сами по себе эти антитела не приносят никакого вреда, если не происходит их повторной встречи с агглютиногеном D. Такая ситуация в клинике рассматривается как **резус-конфликт**.

48. В чем состоит сущность резус конфликта? Приведите примеры резус-конфликта.

Сущность резус-конфликта заключается в реакции агглютинации, происходящей по причине встречи агглютиногена D с иммунными анти-D антителами. Эта ситуация может произойти в ряде случаев. Наиболее типичными являются следующие ситуации.

Пример первый имеет прежде всего теоретическое значение, так как в последние десятилетия производится переливание только одногруппной крови (см. вопрос 50). Например, в ответе на вопрос 47 рассматривается случай переливания резус-положительной донорской крови резус-отрицательному реципиенту. В результате этого в организме реципиента наблюдается высокий титр антител «анти-D» (**антирезус-агглютининов**). Если такому пациенту придется повторно переливать резус-положительную кровь, то в этом случае эритроциты **донора** встретятся с антирезус-агглютинами, находящимися у реципиента. Если концентрация этих антител достаточно высока, то произойдет агглютинация эритроцитов донора в крови реципиента, что приведет к тяжелым для него последствиям вплоть до гибели.

Пример второй. Если резус-отрицательная женщина имеет резус-положительный плод, то при нормальном протекании беременности каких либо проблем, связанных с опасностью резус-конфликта, не возникает. Однако при патологии плаценты может произойти смешивание крови плода и матери. В этой ситуации опасно проникновение эритроцитов плода в организм матери, что приведет к возникновению у нее иммунной реакции и повышению титра антирезус-агглютининов (уже после того, как ребенок ро-

дился!). Проблемы могут возникнуть в том случае, если у этой женщины будет повторная беременность и плод опять будет резус-положительным. Тогда на ранних стадиях беременности антирезус-агглютинины могут проникнуть в организм плода и вызвать агглютинацию его эритроцитов (это резус-конфликт!), в результате чего плод может погибнуть (при относительно небольшом титре антирезус-агглютининов ребенок остается живым, но у него развивается гемолитическая болезнь). В настоящее время таким женщинам после беременности проводится курс специальной терапии, направленной на снижение титра антирезус-агглютининов.

49. Как проводится определение резус-принадлежности человека?

Принцип обнаружения в крови человека резус-фактора такой же, как и при обнаружении агглютиногенов системы АВО. То есть, в пробирке или на стекле смешивают стандартную сыворотку, содержащую антирезус-агглютинины с небольшим количеством исследуемой крови. Если при этом происходит агглютинация эритроцитов, то становится ясно, что кровь содержит резус-фактор. Если же агглютинации нет, то исследуемая кровь является резус-отрицательной.

В том случае, когда агглютинация выражена слабо и результат исследования вызывает сомнение, проводят дополнительное исследование, смешивая стандартную сыворотку в одном случае с заведомо резус-положительной кровью, а в другом случае – с заведомо резус-отрицательной. Наличие агглютинации в первом случае и отсутствие ее во втором будет служить контролем для окончательного вывода по результатам исследования (рис. 8).



Рис. 8. Постановка пробы для определения резус-принадлежности исследуемой крови

В настоящее время для определения резус-принадлежности используют и антиД-целиклены. Если при смешивании крови с антиД-целикленами образуется агглютинация, то это означает, что исследуемая кровь резус-положительная, если агглютинации нет, то кровь резус-отрицательная.

50. Каковы современные взгляды на вопрос о групповой совместимости при переливании крови?

Несколько десятилетий назад в теории и практике переливания крови существовало представление об *универсальном доноре* и *универсальном реципиенте*. Оно относилось к учету групповой совместимости по системе АВО. Считалось, что *донор* (человек, от которого забирается кровь) группы крови $O\alpha\beta$ (I) является *универсальным*, так как его кровь может переливаться любому человеку (*реципиенту* с любой группой крови). *Универсальным ре-*

ципиентом считался человек с группой крови АВ(IV), так как ему могла переливаться кровь от человека с любой группой крови.

Однако при этом переливалось не более 200-250 мл крови, так как существовало правило: **при переливании разнотипной крови совместимость крови оценивается по эритроцитам (агглютиногенам) донора и плазме (агглютинином) реципиента.** агглютинины донора и агглютиногены реципиента при этом не учитывали. Пользуясь этим правилом, исходили из того, что небольшая порция агглютининов крови донора попадая в кровь реципиента, существенно разбавлялась в ней и титр агглютининов резко снижался и не вызывал агглютинацию эритроцитов реципиента.

Однако большой клинический опыт ученых разных стран показал опасность подобных переливаний разнотипной крови и **в настоящее время переливается только однотипная кровь** по следующей схеме:

Система АВО

$O\alpha\beta \rightarrow O\alpha\beta$

$A\beta \rightarrow A\beta$

$B\alpha \rightarrow B\alpha$

$AB \rightarrow AB$

Система резус (Rh)

$Rh^+ \rightarrow Rh^+$

$Rh^- \rightarrow Rh^-$

Вместе с тем следует помнить, что донор и реципиент, совместимые по агглютиногенам системы АВО, могут быть несовместимы по антигенам других систем. Антигенные свойства агглютиногенов других систем могут быть по какой-либо причине усилены, а значит, привести к несовместимости крови донора и реципиента. Поэтому в клинических условиях переливание крови проводят по строго определенным показаниям и при этом всегда **строго соблюдают следующие правила переливания крови:**

1. Всегда переливается только однотипная кровь как по системе АВО, так и по системе резус.

2. Нельзя от одного и того же донора повторно переливать кровь одному и тому же реципиенту.

3. Всегда перед переливанием крови проводится проба на индивидуальную совместимость крови донора и реципиента. При этом на кафельной пластинке смешивают эритроциты донора и плазму реципиента. Если в этом случае происходит агглютинация, то кровь переливать нельзя!

4. Непосредственно перед переливанием проводят биологическую пробу! Суть ее заключается в том, что пациенту весь объем крови, предназначенный для переливания, вводится не сразу. Сначала вводится небольшая порция крови (5-10 мл) и в течение 3 минут оценивается объективное и субъективное состояние пациента. Если противопоказаний нет, то эту процедуру повторяют еще дважды и только после этого проводят переливание всей назначенной порции крови.

Подробнее все эти вопросы Вы будете изучать в курсе общей хирургии

Нам осталось рассмотреть вопросы, касающиеся изучения функциональных методов исследования системы крови. Выбор методов основан на требованиях программы курса нормальной физиологии, а также продиктован их широким применением в клинической практике.

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ СИСТЕМЫ КРОВИ

Забор капиллярной крови для исследования

Правильный забор капиллярной крови является одним из решающих условий, обеспечивающих точность и воспроизводимость результатов. Наряду с гематологическими параметрами в капиллярной крови могут быть определены некоторые биохимические показатели (например, глюкоза). Общее время, затрачиваемое на забор крови, не должно превышать 2-3 минут. Во взятой крови должны отсутствовать признаки свертывания.

Оснащение

1. Игла-скарификатор однократного употребления, стерильная.
2. Капилляр Панченкова.
3. Часовое стекло или предметное стекло с лункой.
4. Этиловый спирт.
5. Спиртовая настойка йода.
6. Ватные тампоны.
7. Резиновые перчатки.

Техника выполнения

Забор крови целесообразно производить из IV пальца левой руки. Допустимо получать кровь из любого другого пальца. Лаборант, производящий забор крови, должен пользоваться резиновыми перчатками.

1. Кожу подушечки пальца обрабатывают ватным тампоном, смоченным этиловым спиртом, и ждут ее высыхания.
2. Левою рукою исследователь слегка сдавливает мякоть пальца в области предполагаемого укола. В правую руку следует взять скарификатор, ориентируя его строго перпендикулярно поверхности кожи в месте укола. Наиболее удобным местом прокола кожи является точка слева от срединной линии на некотором расстоянии от ногтя. Укол производится на всю глубину острия иглы, рассекая при этом кожу поперек дактилоскопических линий. Первую каплю крови удаляют.
3. Производят забор крови капилляром Панченкова. Для этого выступающей при легком надавливании на палец кровью заполняют его полностью.
4. Распределяют взятую кровь следующим образом:
 - по небольшой капле наносят на предметные стекла для приготовления мазков;
 - кровь до метки "О" ("К") выпускают на часовое стекло или предметное стекло с лункой для последующего забора крови с целью определения концентрации эритроцитов, лейкоцитов, гемоглобина (см. ниже);

- оставшуюся кровь вносят в предварительно приготовленный на часовом стекле 5%-ный раствор цитрата натрия для определения СОЭ (см. ниже).
5. После взятия крови к месту укола прижимают ватный тампон, смоченный настойкой йода.

Особенности выполнения в детском возрасте: у детей раннего возраста местом укола может служить мочка уха, большой палец ноги или пятка.

Методы исследования эритроцитарной системы

Определение концентрации эритроцитов

Современные электронные счетчики форменных элементов крови позволяют автоматизировать процесс подсчета. В основе их работы лежит кондуктометрический принцип. Этот принцип заключается в том, что разведенная суспензия клеток крови засасывается через микроотверстие датчика, при прохождении клетки крови резко возрастает омическое сопротивление, что вызывает импульс напряжения, который подсчитывается электронным блоком прибора. Отверстие датчика обычно имеет диаметр 70-100 мкм. Амплитуда импульса напряжения зависит от объема клетки, что позволяет одновременно определять распределение клеток по объему.

В настоящее время эти приборы являются полностью роботизированными, то есть способны самостоятельно осуществлять забор крови из пробирки, ее разведение, гемолиз эритроцитов для подсчета лейкоцитов или тромбоцитов и другие операции.

Фотометрические методы, основанные на измерении степени светорассеяния, применять не следует, так как при этом возникают значительные несистематические ошибки, обусловленные влиянием размеров и форм эритроцитов.

При отсутствии «гематологического робота» для определения концентрации эритроцитов (и лейкоцитов) используют камеру Горяева.

Оснащение

1. Пипетка объемом 0,02 мл.
2. Пипетка объемом 4 мл.
3. Пробирка.
4. Камера Горяева.
5. 0,9%-ный раствор хлорида натрия.
6. Микроскоп.

Камера Горяева (рис.9) представляет собой толстое прямоугольное стекло с двумя сетками, выгравированными на его поверхности. Сетки отделены друг от друга поперечной канавкой во избежание затекания жидкости. Двумя глубокими продольными канавками сетки отделены от стеклянных прямоугольных пластинок, к которым притирают шлифованное покровное стекло. Плос-

кость поверхности этих пластинок находится на 0,1 мм выше плоскости, в которой нанесены сетки.

Сетка камеры Горяева образована системой перпендикулярных линий. Сетка состоит из 225 больших квадратов со стороной 1/5 мм, площадью 1/25 мм² и объемом 1/250 мкл, в том числе 100 из них не разлинованы. 25 больших квадратов разделены каждый на 16 малых со стороной 1/20 мм, площадью 1/400 мм² и объемом 1/4000 мкл.

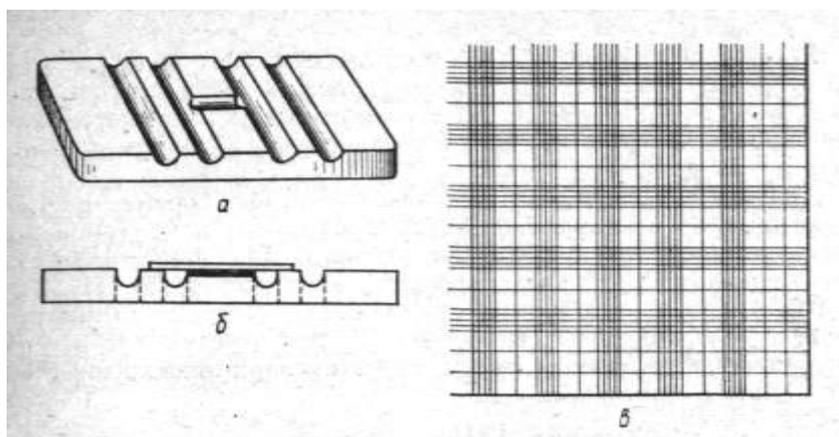


Рис.9. Камера Горяева:

а - вид сверху, б - вид сбоку, в - сетка камеры Горяева

Камеру перед заполнением промывают водой и насухо вытирают. На участок камеры, где нанесены сетки, укладывают обезжиренное покровное стекло. При этом нижняя поверхность камеры находится на средних пальцах обеих рук, два указательных пальца придерживают ее спереди. Двумя большими пальцами притирают покровное стекло, плавно продвигая его по поверхности прямоугольных пластинок до появления цветных колец Ньютона в местах соприкосновения покровного стекла с поверхностью пластинок камеры.

Техника выполнения

1. В пробирку вносят 4 мл раствора хлорида натрия и добавляют 0,02 мл крови, тщательно промывая пипетку разводящей жидкостью. Перемешивают. Получают разведение крови 1:200.
2. Заполняют камеру Горяева. Для этого перед подсчетом разведенную кровь в пробирке повторно тщательно перемешивают. Каплю исследуемой жидкости пипеткой помещают перед щелью, образованной покровным стеклом и пластинкой камеры Горяева с нанесенной сеткой. Под действием капиллярных сил жидкость заполняет камеру. При этом необходимо следить за тем, чтобы в пространстве над сеткой не было пузырьков воздуха и избытка жидкости.
3. До начала подсчета оставляют счетную камеру на 1-2 минуты для осаждения форменных элементов.
4. Камеру кладут на столик микроскопа и настраивают его на малое увеличение (объектив 8-9х; окуляр 10х или 15х). Подсчет следует производить при

несколько опущенном конденсоре. Хорошую контрастность обеспечивает фазово-контрастное устройство.

5. Эритроциты считают в 5 больших квадратах ($5 \times 16 = 80$ малых), расположенных по диагонали. Подсчету подлежат все эритроциты, лежащие внутри малого квадрата, и те, которые находятся на его верхней и левой границе.

6. Вычисляют количество эритроцитов в 1 литре крови (Э) по формуле:

$$\text{Э} = \frac{N \times 4000 \times 200}{80} \times 10^6, \quad \text{где}$$

N - количество эритроцитов в 5 больших квадратах;

80 - количество малых квадратов, в которых был произведен подсчет;

4000 - множитель, приводящий объем малого квадрата ($1/4000$ мкл) к объему 1 мкл крови;

200 - поправка на степень разведения крови;

10^6 - количество микролитров в 1 литре.

Множитель 10^{12} в системе СИ принято заменять приставкой "Т" (тэра).

На практике число эритроцитов, подсчитанных в 5 больших квадратах, делят на 100 и получают результат в "Т/л".

Источники ошибок

- Образование сгустка крови
- Неправильное притирание покровного стекла (нет колец Ньютона), что не обеспечивает стандартной высоты камеры и искажает результаты
- Подсчет эритроцитов сразу после заполнения камеры (клетки при этом не успевают осесть на дно)
- Использование неадекватного или неправильно приготовленного разводящего раствора, что вызывает гемолиз.

Оценка результатов

В норме концентрация эритроцитов составляет: 3,9 - 4,7 Т/л у женщин, 4,0 - 5,5 Т/л у мужчин.

Сразу после рождения концентрация эритроцитов составляет около 6,0 Т/л (колебания в пределах 5,4 - 7,2 Т/л). С конца первых - начала вторых суток жизни обычно происходит снижение числа эритроцитов в крови, наиболее выраженное на 5-7-й день. Минимального значения этот показатель достигает к 2-3 месяцам, а затем (начиная с 6 месяца) несколько увеличивается и поддерживается на уровне взрослых.

Уменьшение концентрации эритроцитов в крови (эритропения) может наблюдаться при гемодилуции (ложная эритропения), а также при угнетении эритропоэза, при усилении разрушения эритроцитов, или при кровопотери (истинная эритропения).

Увеличение концентрации эритроцитов в крови (эритроцитоз) встречается при гемоконцентрации (ложный эритроцитоз), а также при усилении эритропоэза на фоне неизменной интенсивности гемолиза, либо при снижении интенсивности гемолиза (истинный эритроцитоз).

Определение концентрации гемоглобина

Унифицированным в России и многих других странах является гемиглобинцианидный метод определения гемоглобина крови. Определение гемоглобина при помощи гемометра Сали (ГС-3) производится не должно из-за низкой точности (ошибка составляет до 20%), но до сих пор используется в некоторых лечебных учреждениях, не имеющих фотоэлектроколориметров или фотоэлектрических гемоглобинометров. Кроме того, данный метод пригоден для использования в полевых условиях.

1. Метод Сали

Принцип этого метода заключается в том, что все виды гемоглобина крови под влиянием соляной кислоты превращается в хлорид гематина (солянокислый гематин) бурого цвета, интенсивность окраски которого сравнивают со стандартом.

Оснащение

1. Гемометр Сали ГС-3 (рис.10), который представляет собой штатив с 3 гнездами. В крайние гнезда вставлены запаянные пробирки со стандартной цветной жидкостью, соответствующей по спектральным характеристикам (цвету) и оптической плотности определенной концентрации хлорида гематина. В среднем гнезде находится градуированная пробирка с нижней круговой меткой (0,2 мл) и шкалой, которая показывает концентрацию гемоглобина в «г%» (граммы гемоглобина на 100 мл крови). Задняя стенка штатива закрыта матовым стеклом.
2. Стеклянная палочка.
3. Пипетка объемом 0,02 мл.
4. 0,1 Н раствор соляной кислоты.
5. Дистиллированная вода.
6. Пипетка глазная.

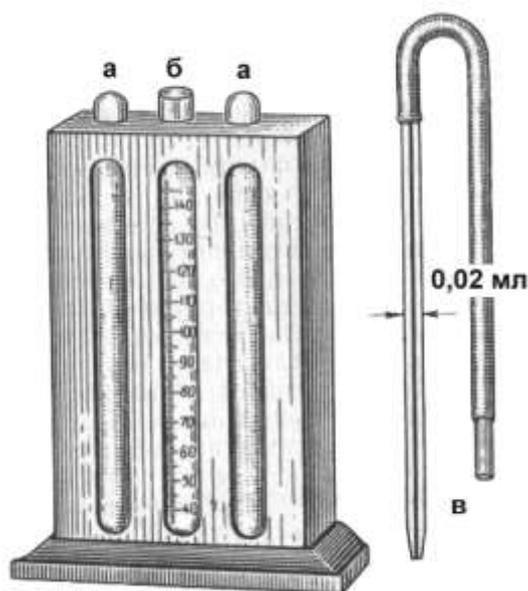


Рис.10. Гемометр Сали:

а - запаянные пробирки со стандартной жидкостью, б - градуированная пробир-

ка, в - пипетка объемом 0,02 мл

Техника выполнения

1. В центральную пробирку гемометра до нижней круговой метки вносят 0,1N раствор соляной кислоты.

2. Пипеткой набирают 0,02 мл крови. Тщательно вытирают кончик пипетки снаружи. Вносят кровь на дно пробирки таким образом, чтобы верхний слой жидкости остался прозрачным. Повторными всасываниями и выдуваниями промывают пипетку верхним слоем жидкости. Путем осторожного встряхивания содержимое пробирки перемешивают и, засекая время, оставляют стоять в течение 5 минут. Вследствие гемолиза и образования хлорида гематина смесь становится прозрачной и буреет.

3. Через 5 минут к исследуемой жидкости добавляют дистиллированную воду по каплям, каждый раз тщательно перемешивая смесь стеклянной палочкой. Разведение заканчивают, когда цвет жидкости сравнивается с цветом стандартов. Цвет жидкости и стандартов необходимо сравнить при дневном освещении в проходящем свете, держа гемометр в вытянутой руке на уровне глаз.

4. Определяют, какому делению шкалы соответствует нижний мениск жидкости. Цена деления шкалы соответствует 0,2 г/%.

5. Концентрацию гемоглобина пересчитывают в граммы на литр (г/л), для чего полученные данные умножают на 10.

Источник ошибок

- Искажение цвета полученного раствора в зависимости от количества и состава белков плазмы
- Неточное соблюдение 5-минутной выдержки перед началом разведения
- Выцветание стандартных растворов
- Неточное приготовление 0,1 N раствора соляной кислоты

2. Гемиглобинцианидный (цианметгемоглобиновый) метод

Принцип этого метода заключается в том, что после взаимодействия с трансформирующим раствором, содержащим ацетонциангидрин, гемоглобин окисляется в метгемоглобин (гемиглобин), который под влиянием CN-ионов образует окрашенный в красный цвет комплекс — цианметгемоглобин (гемиглобинцианид). Оптическую плотность раствора определяют на универсальном или специальном фотоэлектроколориметре (гемоглобинометре).

Оснащение

1. Гемоглобинометр фотоэлектрический типа ГЭ-3.
2. Трансформирующий раствор с ацетонциангидрином.
3. Пипетка объемом 0,02 мл.
4. Пипетка объемом 5 мл.
5. Пробирка.

Техника выполнения

1. 0,02 мл крови приливают в 5 мл трансформирующего раствора в пробирки (разведение 1: 250) и хорошо перемешивают.

2. Через 10 минут (раствор остается стабильным в течение более 24 часов) измеряют на фотоэлектроколориметре оптическую плотность при длине волны 500-560 нм (зеленый светофильтр) в кювете с длиной оптического пути 10 мм против холостой пробы трансформирующего раствора или на гемоглобинометре.

3. Концентрацию гемоглобина в «г/л» определяют по калибровочному графику, построенному с использованием стандарта гемиглобинцианида.

Источник ошибок

Отклонения получаемых значений могут быть связаны только с погрешностями взятия крови или с неисправностью фотометрической аппаратуры.

Оценка результатов

В норме концентрация гемоглобина в крови составляет: у женщин 120 - 145 г/л, у мужчин - 130 - 165 г/л. Снижение концентрации гемоглобина обычно сочетается с эритропенией, а повышение - с эритроцитозом.

Концентрация гемоглобина после рождения составляет 210 г/л (180-240 г/л). Дальнейшая динамика этого показателя соответствует изменениям, наблюдающимся со стороны концентрации эритроцитов.

Определение гематокрита

Гематокрит - доля объема крови, которую занимают форменные элементы. Этот показатель дает представление о соотношении между объемом плазмы и объемом форменных элементов в крови.

Оснащение

1. Стеклянные капилляры длиной 75 мм. Их предварительно гепаринизируют, заполняя раствором гепарина с активностью 1000 Ед/мл и высушивая.
2. Микроцентрифуга гематокритная МЦГ-8, ротор который снабжен насадкой с 24 гнездами для капилляров. Центрифуга имеет таймерное устройство и обеспечивает скорость вращения 8000 об/мин.
3. Замазка для капилляров.
4. Линейка или специальная шкала.

Техника выполнения

1. Капилляр заполняют кровью на 7/8 его длины.
2. Закупоривают капилляр специальной замазкой с того конца, через который производился забор крови.
3. Помещают капилляры с кровью в ротор центрифуги таким образом, чтобы закупоренные концы были направлены наружу от оси вращения и упирались в резиновую прокладку.
4. Центрифугируют в течение 5 минут.
5. Определяют гематокрит при помощи специальной шкалы или линейки. В последнем случае измеряют высоту столбика эритроцитов (ВЭ) и высоту столбика плазмы (ВП). Рассчитывают гематокрит по формуле:

$$\Gamma = \frac{\text{ВЭ}}{\text{ВЭ} + \text{ВП}} \times 100\%.$$

Источник ошибок

Единственным источником ошибок может служить свертывание крови при неадекватной обработке капилляра антикоагулянтом.

Оценка результатов

В норме гематокрит составляет у женщин 0,36-0,42 (36 - 42%), у мужчин - 0,40 - 0,48 (40 - 48%). Увеличение гематокрита наблюдается при эритроцитозе, уменьшение - при эритропении или микроцитозе (уменьшении объема эритроцитов) на фоне неизменной концентрации эритроцитов. Теоретически гематокрит должен увеличиваться при макроцитозе, но последний у взрослых наблюдается только на фоне выраженной эритропении.

Новорожденные имеют высокий гематокрит, в среднем составляющий 57%. Дальнейшая динамика этого показателя соответствует изменениям концентрации эритроцитов в периферической крови.

Расчетные показатели, характеризующие состояние красной крови

Исходя из данных концентрации эритроцитов и гемоглобина, можно оценить степень насыщения эритроцитов гемоглобином. В настоящее время во всех странах принято рассчитывать среднее содержание гемоглобина в эритроците, но нередко пользуются и цветовым (цветным) показателем. Информативность этих двух параметров совпадает.

1. Среднее содержание гемоглобина в эритроците (ССГЭ)

ССГЭ получают, разделив содержание гемоглобина в 1 литре крови на концентрацию эритроцитов в том же объеме крови:

$$\text{ССГЭ} = \frac{[\text{Hb}]}{[\text{Э}]} \quad (\text{пикограммы, пг}), \text{ где}$$

[Hb] – концентрация гемоглобина в 1л крови (г/л)

[Э] – концентрация эритроцитов в 1 л крови (Т/л)

2. Цветовой (цветной) показатель (ЦП)

ЦП является относительным показателем, характеризующим степень насыщения эритроцитов гемоглобином. Вычисляется путем деления полученного ССГЭ на условно нормальное ССГЭ (166,7 г/л : 5 Т/л = 33,3 пг) или непосредственно, исходя из данных концентрации гемоглобина и эритроцитов, по формуле :

$$\text{ЦП} = \frac{\text{Г} \cdot 3}{\text{Э} \cdot 100} \quad (\text{усл. ед}), \text{ где}$$

Г - концентрация гемоглобина в исследуемой крови (г/л) ;

Э - концентрация эритроцитов в исследуемой крови (Т/л).

Оценка результатов

В норме ССГЭ составляет 28-34 пг, ЦП - 0,85-1,05. На величинах ССГЭ и ЦП основана классическая классификация анемий. Так, при ССГЭ <

28 пг или ЦП <0,85 говорят о гипохромной анемии и гипохромии (гипохромазии) эритроцитов, которая связана с истинным снижением содержания гемоглобина в эритроците или с уменьшением его объема. Если ССГЭ >34 пг или ЦП >1,05, то такая анемия носит название гиперхромной. Гиперхромия (гиперхромазия) эритроцитов обусловлена исключительно увеличением объема эритроцитов, а не повышением концентрации гемоглобина в единице объема клетки.

ССГЭ и ЦП не имеют существенной возрастной динамики у здоровых детей.

3. Средний объем эритроцита (СрОЭ)

СрОЭ определяется делением гематокритной величины на концентрацию эритроцитов в том же объеме по формуле:

$$\text{СрОЭ} = \frac{\text{Гт}}{\text{Э}} \times 10 \text{ (мкм}^3\text{)}, \text{ где}$$

Гт – гематокрит (доля объема крови, занимаемая эритроцитами) (%)

Э - концентрация эритроцитов в том же объеме крови (Т/л)
мкм³ или фемтолитр (фл)

В норме СрОЭ составляет 76 – 96 мкм³. Снижение СрОЭ обусловлено наличием в крови микроцитов, а повышение – наличием макроцитов. Этот показатель является весьма информативным, особенно в сочетании с гистограммой распределения эритроцитов по объему, которая автоматически регистрируется всеми гематологическими лабораторными комплексами зарубежного производства.

Определение концентрации ретикулоцитов

Ретикулоцит - это молодой эритроцит, только что вышедший из красного костного мозга. При обычной окраске он не имеет отличий от зрелых эритроцитов. Для выявления ретикулоцитов используют специальные методы суправитального (прижизненного) окрашивания.

Оснащение

1. 1%-ный раствор бриллиантового крезилового синего в этиловом спирте.
2. Предметное стекло.
3. Шлифовальное стекло для изготовления мазка.
4. Влажная камера, представляющая собой чашку Петри, на дно которой укладывают смоченную водой фильтровальную бумагу.
5. Микроскоп с иммерсионным объективом.

Техника выполнения

1. Каплю краски наносят на сухое обезжиренное в смеси спирта с эфиром предметное стекло и размазывают ее шлифовальным стеклом. Дают краске высохнуть. Такие стекла могут быть заготовлены в прок.
2. На приготовленное таким образом стекло, поверх мазка краски, наносят тонкий мазок крови и немедленно помещают стекло во влажную камеру.
3. Мазок выдерживают во влажной камере 3-5 минут, а затем высушивают его на воздухе.

Данная методика окраски ретикулоцитов модифицирована Л.С. Горожаниным (1967) с целью улучшения качества получаемых мазков. Суть модификации сводится к тому, что краска наносится на стекло в виде капли, после ее высыхания сюда же помещают каплю крови, перемешивают, делают мазок и инкубируют во влажной камере.

4. Мазок исследуют под микроскопом с использованием масляной иммерсии. Эритроциты имеют желтовато-зеленую окраску, на фоне которой в ретикулоцитах синяя зернисто-сетчатая субстанция (рис.11).

5. Производят подсчет ретикулоцитов на 1000 эритроцитов (промилле). Целесообразно вставить в окуляр рамку, ограничивающую поле зрения, что облегчает подсчет.

6. Полученный результат переводят в проценты (%).

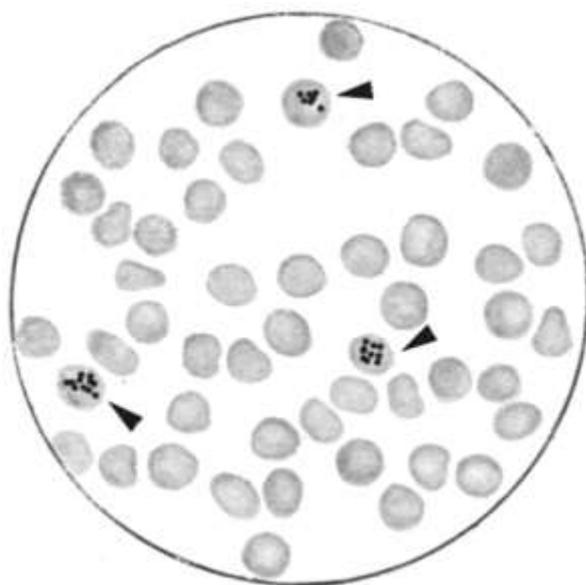


Рис.11. Мазок крови, суправитально окрашенный бриллиантовым крезильковым синим: стрелками отмечены ретикулоциты

Оценка результатов

В норме у взрослых в периферической крови содержится 0,2-1% ретикулоцитов. Увеличение количества ретикулоцитов (ретикулоцитоз) наблюдается при усилении эритропоэза, особенно после кровопотери и при выраженном гемоллизе. Уменьшение числа ретикулоцитов (ретикулоцитопения) имеет место при угнетении эритропоэза, например, при постгипоксическом эритроцитозе, а также в условиях патологии костномозговых эритроидных клеток-предшественников.

В течение первых часов жизни количество ретикулоцитов у детей повышено и может колебаться в пределах от 0,8-1,3 до 4,2%. Затем этот показатель быстро снижается и между 5-м и 7-м днями жизни доходит до минимальных цифр. В дальнейшем, если отсутствуют причины для угнетения или стимуляции эритропоэза, концентрация ретикулоцитов в крови детей соответствует уровню взрослых.

Методы исследования лейкоцитарной системы

Определение скорости оседания эритроцитов (СОЭ)

СОЭ - скорость оседания эритроцитов, измеряемая при отстаивании стабилизированной крови в стандартных условиях и зависящая от изменений химических и физических свойств крови.

Оснащение

1. Аппарат Панченкова (рис.13), состоящий из специального штатива с гнездами и резиновыми прокладками и специальных капилляров. Капилляры представляют собой стеклянные трубки стандартной длины с просветом канала около 1 мм. На стенку капилляра нанесена миллиметровая (!) шкала длиной 100 мм. Верхнее деление шкалы отмечено цифрой «0» и буквой «К» (кровь).
2. 5%-ный раствор цитрата натрия трехзамещенного.
3. Часовое стекло или предметное стекло с лункой.

Техника выполнения

1. В капилляр набирают 5%-ный раствор цитрата натрия до метки «75» и выдувают на часовое стекло.
2. Затем к раствору антикоагулянта добавляют кровь, набираемую в капилляр до метки «0» («К»), перемешивают.
3. Капилляр заполняют полученной смесью до метки «0» («К») и фиксируют в штативе.
4. Через 1 час производят учет СОЭ, определяя, сколько делений шкалы (в мм) занимает слой плазмы, очистившийся в результате оседания эритроцитов.

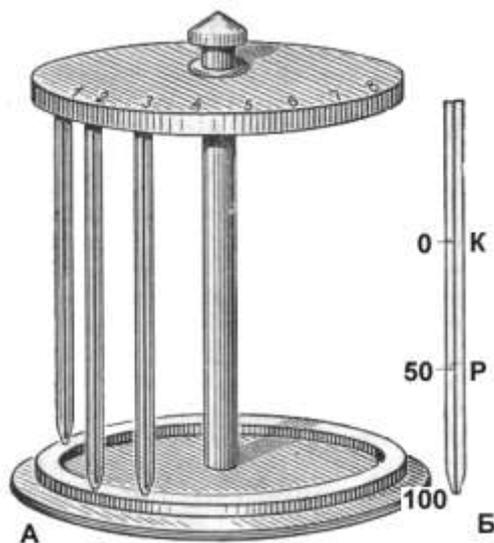


Рис.13. Аппарат Панченкова:

А - штатив с капиллярами; Б - капилляр; 0, 50, 100, К и Р - метки на шкале капилляра

Источники ошибок:

1. Неправильное соотношение между антикоагулянтом и кровью (оно должно составлять 1: 4)
2. Образование сгустка при медленном заборе крови или недостаточном перемешивании
3. Наклонное положение капилляра в штативе
4. Сниженная или повышенная температура воздуха в помещении
5. Варьирование просвета капилляра (Минин Б.А., Горожанин Л.С., 1957)

Оценка результатов

В норме СОЭ составляет у женщин 2-15 мм/ч, у мужчин - 1-10 мм/час. Величина СОЭ зависит от концентрации эритроцитов (увеличивается при эритропении, уменьшается при эритроцитозе), вязкости крови (понижается при сгущении крови), соотношения различных фракций белков крови (увеличивается при повышении концентрации бета- и гамма-глобулинов, фибриногена). СОЭ увеличивается при беременности (в связи с повышением концентрации фибриногена).

У новорожденных наблюдается замедление СОЭ, обусловленное эритроцитозом и низкой концентрацией фибриногена. В дальнейшем значение СОЭ соответствует уровню взрослых.

Определение концентрации лейкоцитов

Определение концентрации лейкоцитов в крови имеет важное значение как для оценки функционального состояния здорового человека, так и для диагностики заболеваний.

Оснащение

1. Пипетка объемом 0,02 мл.
2. 3%-ный раствор уксусной кислоты, подкрашенный метиленовым синим.
3. Камера Горяева (описание и порядок работы с ней см. в работе «Определение концентрации эритроцитов»).
4. Пипетка объемом 1 мл.
5. Пробирка.

Техника выполнения

1. В пробирку вносят 0,4 мл уксусной кислоты и добавляют 0,02 мл крови, тщательно промывая пипетку. Перемешивают. Получается разведение 1:20.
2. Заполняют камеру Горяева.
3. Оставляют счетную камеру на 1-2 минуты для осаждения форменных элементов.
4. Подсчитывают лейкоциты в 100 больших квадратах. Это все большие неразлинованные квадраты, которые в сетке камеры Горяева сгруппированы по 4 (см. рис.1).
5. Вычисляют концентрацию лейкоцитов в 1 л крови (Л) по формуле:

$$Л = \frac{N * 4000 * 20}{1600} 10^6, \text{ где}$$

N - количество лейкоцитов, сосчитанных в 100 больших квадратах;
1600 - количество сосчитанных малых квадратов (100*16=1600);
4000 - множитель, приводящий объем малого квадрата (1/4000 мкл) к
объему 1 мкл крови;

10^6 - количество микролитров в 1 литре.

Множитель 10^9 в системе СИ принято заменять приставкой «Г» (гига).

Например, 6,0 Г/л.

На практике число лейкоцитов, подсчитанных в 100 больших квадратах, делят на 20 и получают результат в «Г/л».

Источники ошибок: те же, что при подсчете эритроцитов

Оценка результатов

В норме концентрация лейкоцитов составляет 4,0-9,0 Г/л. Уменьшение концентрации лейкоцитов в крови (лейкопения) всегда носит патологический характер. Увеличение концентрации лейкоцитов в крови (лейкоцитоз) может быть физиологическим, то есть возникать у здоровых людей (пищевой, миогенный, при беременности), и патологическим.

Число лейкоцитов в периферической крови в первые 5 дней жизни ребенка весьма высоко и составляет 18-20 Г/л. В 2-недельном возрасте оно снижается до 9-12 Г/л, а в последующие периоды онтогенеза не отличается от уровня взрослых.

Определение лейкоцитарной формулы

Лейкоцитарная формула представляет содержание отдельных типов лейкоцитов, выраженное в процентах.

Исследование лейкоцитарной формулы трудоемко, включает много этапов и ряд технических нюансов, существенно влияющих на точность полученных результатов. Поэтому при описании техники выполнения отмечены только основные этапы проведения исследования. Непосредственному подсчету лейкоцитарной формулы студенты обучаются на кафедре гистологии. Поэтому, при изучении нормальной физиологии следует научиться методике анализа лейкоцитарной формулы.

Техника выполнения

1. Приготовление мазка крови.
2. Фиксация мазка крови (идеальный фиксатор - метанол).
3. Окраска мазка крови азуром-II и зозином.
4. Дифференциальный подсчет 100-200 лейкоцитов под микроскопом.

Оценка результатов

Лейкоцитарная формула дает представление об относительном содержании различных видов лейкоцитов в крови (в процентах). Целесообразно вычислять их абсолютные концентрации (табл. 1). Расчет производят по формуле:

$$X (\text{абс}) = \frac{X (\text{отн}) * Л}{100}, \text{ где}$$

X (абс.) - абсолютное содержание лейкоцитов того или иного вида в крови (Г/л);

X (отн) - их относительное содержание (%);

Л - концентрация лейкоцитов в крови (Г/л).

Таблица 1
Нормы абсолютного и относительного содержания различных видов лейкоцитов (Михайлов В.Г., 1986)

Тип лейкоцитов	Нейтрофилы			Б	Э	Л	М
	Ю	П	С				
Относительное содержание, %	0	1-6	47-72	0-1	0,5-5	19-37	3-11
Абсолютная концентрация, Г/л	0	0,04 - 0,30	2,00 - 5,50	0 - 0,07	0,02 - 0,30	1,20 - 3,00	0,09 - 0,60

Самостоятельное диагностическое значение имеет оценка соотношения между различными формами нейтрофильных гранулоцитов. Для этого предложен специальный показатель – индекс сдвига ядер (индекс сдвига, ИС):

$$\text{ИС} = \frac{\text{миелоциты} + \text{метамиелоциты (юные)} + \text{палочкоядерные}}{\text{сегментоядерные}}$$

В норме ИС = 0,06. Увеличение процента незрелых нейтрофильных гранулоцитов в периферической крови и величины ИС называют сдвигом лейкоцитарной формулы влево.

Таблица 2

Лейкоцитарная формула у детей разного возраста (Е.Н. Мосягина и др., 1981)

Воз-Раст	Нейтрофилы		Эозинофилы		Базофилы		Лимфоциты		Моноциты	
	%	Г/л	%	Г/л	%	Г/л	%	Г/л	%	Г/л
При рождении	53-82	6-24	0,6	0,90	0-4	0-0,6	18-30	2-8,7	15-34	0,7-5,2
2 недели	18-46	1,9-6,1	1,5-6,5	0,2-0,9	0-2	0-0,3	22-69	3-9,4	8,5-28	1,2-3,7
1 год	26-50	2-7	1-5	0,1-0,7	0-1	0-0,1	52-64	4-9	1-6	0,1-0,8
4-8 Лет	40-50	2,5-7	1-5	0,1-0,6	0-1	0-0,1	34-48	2,5-6	1-6	0,1-0,8
8-14 Лет	60-70	3-7	1-5	0,1-0,6	0-1	0-0,1	28-42	1,5-4,5	1-6	0,1-0,6

Лейкоцитарная формула в процессе роста и развития ребенка претерпевает существенные изменения. При рождении число нейтрофилов составляет около 60-70%, отмечается сдвиг лейкоцитарной формулы влево за счет большого содержания палочкоядерных и появление юных нейтрофилов. В течение первых дней жизни число нейтрофилов падает, а количество лимфоцитов увеличивается. На 5-й день жизни их число сравнивается, составляя 40-45%, наблюдается так называемый «первый перекрест». Концентрация лимфоцитов выше, чем концентрация нейтрофилов до 4-5-летнего возраста, когда наблюдается «второй перекрест» и количество лимфоцитов превышает число нейтрофилов. Пределы колебаний относительного и абсолютного содержания отдельных видов лейкоцитов в периферической крови приведены в таблице 2.

Методы исследования системы гемостаза

Определение времени остановки кровотечения

Длительность кровотечения при повреждении микрососудов целиком определяется функциональным состоянием сосудисто-тромбоцитарных механизмов гемостаза.

Оснащение

1. Принадлежности для взятия крови.
2. Секундомер.
3. Стерильная фильтровальная бумага.

Техника выполнения

1. Производят прокол кончика пальца скарификатором. Включают секундомер.
2. Каждые 30 секунд снимают фильтровальной бумагой каплю крови, выступившую самостоятельно (без надавливания!).
3. После остановки кровотечения обрабатывают палец настойкой йода.
4. Длительность кровотечения (ДК) определяют по числу пятен крови на фильтровальной бумаге (N), производят расчет по формуле:

$$ДК = N / 2 \text{ (мин).}$$

Оценка результатов

В норме время остановки кровотечения не превышает 4 минут. Удлинение этого показателя наблюдается при тромбоцитопениях и тромбоцитопатиях (нарушения функциональных свойств тромбоцитов). При нарушениях свертываемости крови (гемофилия и др.) время остановки кровотечения остается нормальным, так как гемостаз в зоне микроциркуляторного русла обеспечивается только сосудистыми и тромбоцитарными механизмами.

Определение времени свертывания крови

Свертывание крови *in vitro* обусловлено исключительно внутренним механизмом, запускаемым за счет контактной активации XII фактора (фактора Хагемана). Исследование времени свертывания проводится визуально, а также при помощи электрокоагулографа.

1. Визуальный метод

Оснащение

1. Сухой капилляр Панченкова.
2. Секундомер.

Техника выполнения

1. Прокалывают палец, первую каплю крови удаляют.
2. В капилляр Панченкова сплошным столбиком набирают 25 мм крови. Включают секундомер.
3. Путем наклона капилляра на 45° переводят взятую кровь на его середину. Затем через каждые 30 секунд наклоняют капилляр на 45° сначала в одну сторону, затем возвращают капилляр в горизонтальное положение и через 30 секунд вновь наклоняют его, но уже в другую сторону. При наклоне капилляра следят за тем, чтобы столбик крови смещался не более, чем на 10 мм.
4. Отмечают момент замедления движения крови или появление на стенке капилляра микросгустков.
5. Окончание процесса свертывания регистрируют в момент полного прекращения движения крови.

Оценка результатов

В норме свертывание капиллярной крови начинается через 0,5-2 мин, заканчивается через 3-5 мин.

Следует отметить, что определение времени свертывания цельной крови является малочувствительным тестом. Укорочению времени свертывания (гиперкоагуляции) способствуют очень многие факторы. Удлинение его (гипокоагуляция) отмечается при гемофилии и лечении гепарином. Обратите внимание на тот факт, что нормальное время свертывания крови ни в коем случае не исключает наличие нарушений сосудисто-тромбоцитарного гемостаза. Время свертывания крови у детей во всех возрастных группах практически не отличается от уровня показателей у взрослых.

2. Электрокоагулография

Оснащение

1. Электрокоагулограф Н-333, представляющий собой прибор для регистрации процесса свертывания крови или плазмы. Принцип работы прибора заключается в регистрации изменений электрического сопротивления крови в процессе ее свертывания. Кровь помещается в ячейку из фторопласта, на дне которой имеются два электрода из нержавеющей стали. Ячейка находится в воздушном термостате при температуре 37⁰С, встроенном в прибор, и совершает колебательные движения с периодом 10 секунд. Кровь замыкает и размыкает электроды, стекая с них. По мере свертывания крови перемещение ее по ячейке затрудняется. Сгусток крови нарушает прохождение тока, сопротивление между электродами возрастает, амплитуда записываемых зубцов

уменьшается. После окончания процесса свертывания происходит процесс ретракции сгустка и начинается фибринолиз. В результате сопротивление несколько снижается и амплитудные зубцов увеличивается.

2. Секундомер.

Техника выполнения

1. Производят забор капиллярной или венозной крови в ячейку. Включают секундомер.
2. Устанавливают ячейку в прибор, включают запись и выключают секундомер. При этом определяют $T(o)$ - время, прошедшее от момента взятия крови до начала записи.
3. Осуществляют регистрацию процесса в течение 10-15 минут.
4. Получают запись процесса свертывания крови – электрокоагулограмму (рис.14)

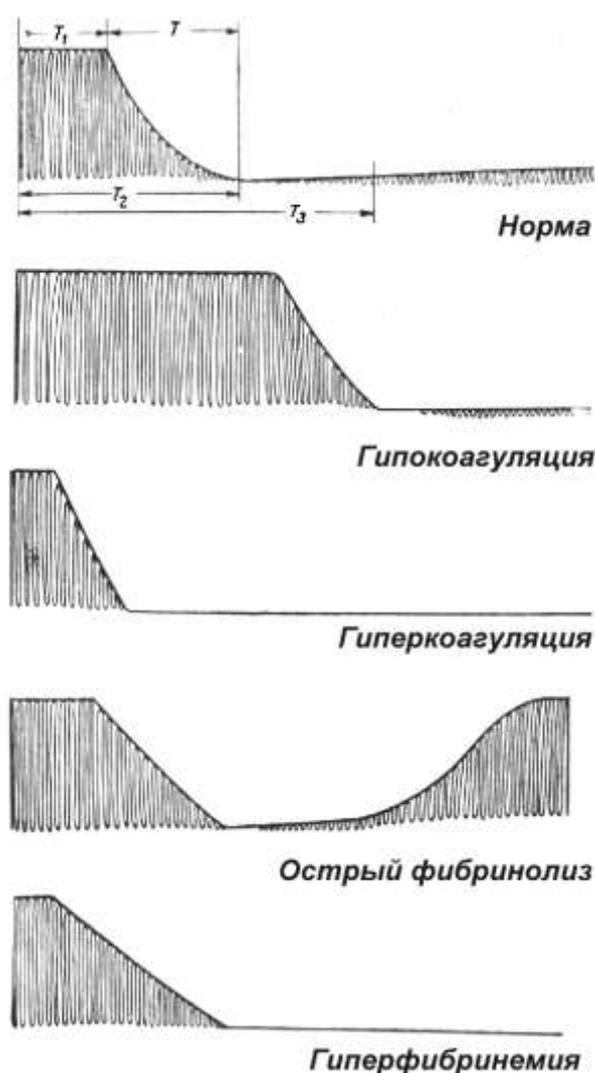


Рис.14. Типы электрокоагулограммы

По коагулограмме определяют следующие показатели:

$T(1)$ - время от забора крови до начала образования фибрина(I + II фазы):

$$T(1) = T(o) + T(AB),$$

где $T(AB)$ - время от начала записи (точка А) до первого колебания с уменьшенной амплитудой (точка В);

$T(2)$ - продолжительность процесса свертывания (I+II+III фазы):

$$T(2) = T(o) + T(AG),$$

где $T(AG)$ - время от начала записи до первого колебания с минимальной амплитудой (точка Г);

T – время образования фибрина (III фаза):

$$T = T(2) - T(1);$$

$T(3)$ - время начала ретракции и фибринолиза (IV фаза):

$$T(3) = T(o) + T(AK),$$

где $T(AK)$ - время от начала записи до первого колебания с увеличенной амплитудой, возникающего после окончания свертывания крови (точка К).

При анализе коагулограммы учтите, что два последовательных зубца следуют друг за другом с интервалом в 10 с.

Оценка результатов

В норме $T(1) = 1,5-4,5$ мин, $T(2) = 5,5-10$ мин, $T = 3-7$ мин, $T(3) = 6-13$ мин.

Определение протромбинового времени (тест Квика)

Протромбиновый тест Квика характеризует процесс свертывания крови при запуске его по внешнему механизму. Таким образом исключается влияние факторов XII, XI, IX и VIII на свертывания крови, так как они принимают участие во внутреннем механизме гемокоагуляции. Данный тест имеет исключительное значение для определения активности VII фактора, так как он участвует только во внешнем механизме.

Оснащение

1. Раствор тромбопластина (стандартный).
2. 3,8%-ный раствор цитрата натрия.
3. 0,5%-ный раствор хлорида кальция.
4. Капилляр Панченкова.
5. Пробирка.
6. Водяная баня или водяной термостат, поддерживающий температуру 37 С°
7. Секундомер.

Техника выполнения

1. В капилляр Панченкова набирают раствор цитрата натрия до метки «80».
2. Производится прокол пальца и в тот же капилляр (не удаляя цитрат натрия) набирают кровь в таком количестве, чтобы уровень смеси достиг метки «0» («К»).
3. Содержимое капилляра переносят в пробирку, которую помещают на водяную баню на 1 минуту.

4. В пробирку с цитратной кровью вносят раствор тромбoplastина капилляром Панченкова, заполненным до метки «0» («К»), и такое же количество раствора хлорида кальция.
5. Включают секундомер.
6. Не вынимая пробирку из водяной бани, осторожно покачивают ее. Останавливают секундомер в тот момент, когда образуется сгусток крови. Получаемое значение носит название «протромбиновое время». Раньше протромбиновое время (ПВ) оценивали по протромбиновому индексу (ПИ), который рассчитывали:

$$\text{ПИ} = \frac{\text{ПВН}}{\text{ПВИ}} \times 100,$$

где ПВН – нормальное протромбиновое время, зависящее от активности стандартного раствора тромбoplastина (указано на флаконе, обычно 12-18 с)

Протромбиновый индекс в норме составляет 80-100%.

В настоящее время протромбиновое время оценивают по двум показателям:

- 1) по **протромбиновому отношению (ПО)**, которое рассчитывается по формуле:

$$\text{ПО} = \frac{\text{ПВ крови больного}}{\text{ПВ контрольной плазмы}}, \text{ где}$$

ПВ контрольной плазмы – 12с

- 2) по **международному нормализованному отношению (МНО)**, которое рассчитывается по формуле:

$$\text{МНО} = \text{ПО}^{\text{МИЧ}}$$

МИЧ – международный индекс чувствительности, который зависит от активности тромбoplastина и составляет для данной серии тромбoplastина **1,1**.

Источники ошибок

1. Использование тромбoplastина с низкой активностью
2. Длительное хранение крови до использования (более 1,5ч)
3. Плохая стабилизация крови цитратом натрия (образование микросгустков)
4. Несоблюдение соотношения объемов крови и антикоагулянта

Оценка результатов

Выше отмечалось, что нормальное значение протромбинового времени определяется активностью коммерческого тканевого тромбoplastина и указывается в паспорте реактива. В норме протромбиновое отношение (**ПО**) составляет **0,9-1,2**. Увеличение протромбинового отношения наблюдается при заболеваниях печени, дефиците витамина К, лечении антикоагулянтами.

МНО в норме близко к **1,0**. Чем выше МНО, тем значительнее гипокоагуляция и тем чаще и опаснее геморрагические осложнения. Показатель МНО используют для контроля при лечении антикоагулянтами непрямого дей-

ствия. Тест позволяет определить дефицит одного или нескольких из пяти факторов свертывания (протромбина (II), Ас-глобулина (V), проконвертина (VII), фактора Стьюарта-Прауэра (X) и в меньшей степени фибриногена). Протромбиновое время у новорожденных удлинено, но быстро достигает уровня взрослых.

Определение групп крови АВО

Под группами крови АВО принимают различные сочетания антигенов (агглютиногенов) и антител по отношению к ним (агглютининов), находящихся в плазме крови.

Существует два групповых агглютиногена - А и В и два агглютинина - а и в. Различное сочетание этих свойств образуют четыре группы крови: O_{AB} (I), A_B (II), B_A (III) и AB_0 (IV).

Для определения групп крови в настоящее время используют стандартные сыворотки, содержащие определенный титр агглютининов или цоликлоны.

1. Использование стандартных сывороток

Оснащение

1. Стандартные сыворотки крови групп О (I), А (II) и В(III), двух различных серий для каждой группы.
2. Изотонический раствор хлорида натрия.
3. Белая фарфоровая пластина со смачиваемой поверхностью.
4. Пипетки.
5. Стеклянные палочки.

Техника выполнения

1. На левой стороне пластины надписывают «О», в середине-«А» и справа-«В», на верхнем крае - фамилию и инициалы лица, у которого определяют группу крови.
2. Под соответствующим обозначением группы крови на пластину наносят по одной большой капле (около 0,1 мл) стандартной сыворотки групп О, А, В. Так как используют стандартные сыворотки двух различных серий для каждой группы, то всего получается 6 капель, которые образуют два ряда. Внимание !!! Сыворотку берут из ампулы пипеткой, которую тотчас же после того, как из нее была выпущена сыворотка, опускают в ту же ампулу с сывороткой, из которой она была взята.
3. Кровь для исследований берут обычным способом. Шесть капель крови величиной с булавочную головку (около 0,01 мл) последовательно переносят сухой стеклянной палочкой на пластинку в 6 точек, каждую рядом с каплей стандартной сыворотки (количество исследуемой крови должно быть приблизительно в 10 раз меньше стандартной сыворотки, с которой она смешивается).
4. Другой стеклянной палочкой перемешивают каплю крови с сывороткой группы О (I) до тех пор, пока смесь не окрасится в равномерно красный цвет. Другой стеклянной палочкой перемешивают следующую каплю крови с сывороткой группы А(II) и так же поступают с сывороткой В(III). То же самое делают во втором ряду. Можно перемешивать кровь с сывороткой одной и

той же палочкой; в этом случае необходимо после размешивания каждой капли промыть палочку в стакане с водой и насухо вытереть.

5. После размешивания капель пластинку покачивают, за тем на 1-2 минуты оставляют в покое и снова периодически покачивают.

Наблюдение за ходом реакции производят не менее 5 минут. Хотя агглютинация начинается в течение первых 10-30 с, наблюдение следует вести и далее- до 5 минут ввиду возможности более позднего возникновения агглютинции.

6. Через 3 минуты после наступления агглютинации в капли смеси сыворотки с эритроцитами, в которых она наступила, добавляют по 1 капле (около 0,05 мл) изотонического раствора хлорида натрия и продолжают наблюдение при периодическом покачивании пластины до истечения 5 минут.

Оценка результатов

Реакция изогемагглютинации в каждой капле может быть положительной или отрицательной. При положительной реакции обычно в течение первых 10-30 с начала перемешивания в смеси появляются видимые невооруженным глазом мелкие красные «зернышки» (агглютинаты), состоящие из склеенных эритроцитов. Мелкие агглютинаты постепенно сливаются в более крупные, а иногда - в хлопья неправильной формы. При этом сыворотка совсем или почти совсем обесцвечивается. При отрицательной реакции жидкость все время (5 минут) остается равномерно окрашенной в красный цвет и в ней не обнаруживается агглютинатов.

Результаты реакций в каплях с сыворотками одной и той же группы, но разных серий должны совпадать.

При наличии агглютинации с сыворотками всех трех групп, проводится дополнительное исследование с сывороткой группы АВ для исключения агглютинации, вызванной антиэритроцитарными аутоантителами. Результат должен быть отрицательный!

8. Результаты реакций с сыворотками трех групп О(І), А(ІІ), В(ІІІ) могут давать четыре различные комбинации положительных и отрицательных реакций (табл.3).

Таблица 3

Интерпретация результатов определения группы крови АВО с использованием стандартных сывороток

Результат реакции с сывороткой группы...				Исследуемая кровь принадлежит к группе
0	А	В	АВ	
-	-	-	не требуется	0 (I)
+	-	+		А (II)
-	+	+		В (III)
+	+	+	-	АВ (IV)

Примечание: знаком (+) обозначено наличие агглютинации, знаком (-) – отсутствие агглютинации

Источники ошибок

1. Использование просроченных стандартных сывороток
2. Избыток крови, добавляемой к сыворотке, может маскировать агглютинацию
3. Кратковременность наблюдения при позднем начале агглютинации
4. Температура окружающего воздуха $> 25^{\circ}\text{C}$ блокирует возникновение агглютинации

2. Использование цоликлонов

Моноклональные анти-А и анти-В антитела продуцируются двумя мышинными гибридами и принадлежат к иммуноглобулинам класса М. Цоликлоны изготавливаются из асцитной жидкости мышей-носителей анти-А и анти-В гибридом. Цоликлон анти-АВ представляет собой смесь моноклональных анти-А и анти-В антител. Технология изготовления реагента исключает возможность его контаминации патогенными для человека вирусами.

Оснащение

1. Цоликлоны анти-А, анти-В и анти-АВ
2. Белая фарфоровая пластина со смачиваемой поверхностью.
3. Пипетки.
4. Стеклянные палочки.

Техника выполнения

1. Нанесите на планшет или пластину индивидуальными пипетками Цоликлоны анти-А, анти-В и анти-АВ по одной большой капле (0,1 мл) под соответствующими надписями.
2. Рядом с каплями антител нанесите по одной маленькой капле исследуемой крови (0,01-0,03 мл).
3. Смешайте кровь с реагентом.
4. Наблюдайте за ходом реакции с Цоликлонами визуально при легком покачивании пластины или планшета в течение трех минут. Агглютинация эритроцитов с Цоликлонами обычно наступает в первые 3-6 секунд, однако наблюдение следует вести три минуты ввиду более позднего появления агглютинации с эритроцитами, содержащими слабые разновидности антигенов А или В.
5. Результат реакции в каждой капле может быть положительным или отрицательным. Положительный результат выражается в агглютинации (склеивании) эритроцитов. Агглютинаты видны невооруженным взглядом в виде мелких красных агрегатов, быстро сливающихся в крупные хлопья. При отрицательной реакции капля остается равномерно окрашенной в красный цвет, агглютинаты в ней не обнаруживаются.
6. Интерпретация результатов реакции агглютинации исследуемой крови с Цоликлонами представлена в таблице 4.

В составе Цоликлонов нет высокомолекулярных добавок, способных вызвать неспецифическую полиагглютинацию эритроцитов, поэтому не требуется проведения контроля с растворителем. При положительном результате реакции агглютинации со всеми тремя Цоликлонами необходимо исключить спонтанную неспецифическую агглютинацию исследуемых эритроцитов.

Для этого смешайте на плоскости одну каплю исследуемой крови (эритроцитов) с каплей физиологического раствора. Кровь можно отнести к группе АВ(IV) только при отсутствии агглютинации эритроцитов в физиологическом растворе.

Таблица 4

Интерпретация результатов определения группы крови АВО с использованием цоликлонов

Результат реакции с Цоликлоном			Исследуемая кровь принадлежит к группе
анти-А	анти-В	анти-АВ	
-	-	-	0 (I)
+	-	+	А (II)
-	+	+	В (III)
+	+	+	АВ (IV)

Примечание: знаком (+) обозначено наличие агглютинации, знаком (-) – отсутствие агглютинации

Определение резус-принадлежности (экспресс-метод)

Определение резус-принадлежности заключается в выявлении в крови человека наличие или отсутствия антигенов резус. Существует три антигена резус: Rh (D), rh* (C), rh** (E). Наибольшее практическое значение имеет антиген Rh (D), обладающий наибольшей активностью. Поэтому под термином «резус-фактор» подразумевают антиген Rh (D). Все группы, в которых содержится Rh (D), условно принято считать резус-положительными (Rh+), а все группы, не содержащие антигена Rh (D), - резус отрицательными (Rh-). Для определения резус-фактора в настоящее время используют стандартную сыворотку, содержащую определенный титр агглютининов или цоликлон анти-D.

1. Использование стандартных сывороток

Оснащение

1. Стандартная сыворотка анти-резус двух различных серий.
2. Белая фарфоровая пластина со смачиваемой поверхностью.
3. Пипетка.
4. Стеклянная палочка

Техника выполнения

1. На белую пластину наносят по капле стандартной сыворотки двух разных серий.
2. Производят забор крови. Стеклопалочкой смешивают небольшое количество крови с сывороткой.
3. Пластины периодически покачивают в течение 3 минут, затем добавляют одну каплю изотонического раствора хлорида натрия и продолжают наблюдение до истечения 5 минут.

Реакция может быть положительной или отрицательной (см. критерии в работе «Определения групп крови АВО»). Если реакция положительная, то исследуемая кровь содержит резус-фактор, и ее называют резус-положительной. Отрицательная реакция свидетельствует о том, что исследуемая кровь является резус-отрицательной.

Источники ошибок

Описанный способ определения резус-фактора относится к группе экспресс-методов и не позволяет дать окончательное заключение о резус-принадлежности исследуемой крови.

2. Использование цоликлонов

Действующим началом ЦОЛИКЛОНА анти-D Супер являются моноклональные анти-D антитела, которые продуцируются гетерогибридомой, полученной в результате слияния человеческой лимфобластоидной линии с миеломной клеточной линией мыши.

ЦОЛИКЛОН анти-D Супер изготовлен на основе культуральной жидкости, кондиционированной клетками-продуцентами антител анти-D. Реагент не содержит антител иной специфичности и поэтому может быть использован для выявления D антигена в эритроцитах любой группы крови.

Моноклональные антитела, принадлежат к одному классу иммуноглобулинов IgM, полностью идентичны по структуре и биологической активности. Анти-D антитела класса M являются полными антителами, то есть вызывают прямую агглютинацию эритроцитов, содержащих D антиген. ЦОЛИКЛОН анти-D Супер может быть использован для выявления D антигена в любых вариантах прямой реакции агглютинации: на плоскости, в пробирках, в микроплате.

Оснащение

1. Цоликлон анти-D Супер.
2. Белая фарфоровая пластина со смачиваемой поверхностью.
3. Пипетка.
4. Стеклопалочка

Техника выполнения

1. На пластину со смачиваемой поверхностью нанесите большую каплю (около 0,1 мл) реагента.
2. Рядом поместите маленькую каплю (0,01-0,05 мл) исследуемой крови и смешайте кровь с реагентом.
3. Наиболее крупная агглютинация наблюдается при использовании эритроцитов в высокой концентрации. Реакция агглютинации начинает развиваться через 10-15 секунд, четко выраженная агглютинация наступает через 30-60 секунд. Использование подогретой до 37-40°C пластинки сокращает время наступления агглютинации.
4. Результаты реакции учитывайте через три минуты. Пластинку после смешивания реагента с кровью рекомендуется покачивать не сразу, а через 20-30 секунд, что позволяет за это время развиться более полной крупнопестковой агглютинации.

Лицензия № 00637 от 05.01.2000 года
Формат 60×841/16. П. л. 4,0
Усл.п.л. 4,7 Заказ Тираж 300 экз.

Государственное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«Ивановская государственная медицинская академия»
Минздравсоцразвития России
153462, г.Иваново, пр.Ф.Энгельса,
