Министерство образования и науки Российской Федерации

Федеральное государственное бюджетное образовательное

учреждение высшего профессионального образования

# КУБАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

##### Кафедра биохимии и физиологии

## КУРСОВАЯ РАБОТА

### Биохимические показатели при острых и хронических анемиях

Краснодар 2012

Содержание

Введение

. Аналитический обзор

.1 Общее понятие анемии

.2 Основные сведения об эритропоэзе

.3 Патогенетическая классификация анемий

.4 Характеристика отдельных видов анемий

.5 Изменение биохимических показателей при анемиях

. Материал и методы исследований

.1 Характеристика материала исследования

.2 Методы исследований

.2.1 Определение СОЭ

.2.2 Подсчет числа эритроцитов

.2.3 Определение уровня гемоглобина

.2.4 Определение цветового показателя

.2.5 Определение гематокрита

.2.6 Подсчет количества лейкоцитов

.2.7 Исследование мазка крови

.2.8 Подсчет ретикулоцитов

.2.9 Определение среднего объема клетки (СОК)

.2.10 Определение метаболизма железа

.2.11 Определение уровня билирубина

Заключение

Библиографический список

эритропоэз анемия кровь лейкоцит

Введение

Анемии - группа заболеваний (состояний), характеризующихся снижением содержания гемоглобина в единице объема крови, чаще при одновременном уменьшении количества эритроцитов.

Актуальность обсуждения этой темы очень велика, так как анемии - весьма распространенные заболевания, связанные с массой самых различных причин, и большое разнообразие факторов, лежащих в основе развития анемий, делает очень важной проблему их дифференциальной диагностики.

Анемия, как ни одно другое заболевание, характеризуется многообразием форм, а зачастую может быть лишь одним из симптомов какого-то общего заболевания. Анемии не имеют возрастных ограничений, могут развиваться как в раннем возрасте, так и в период быстрого роста детей, а также при других физиологических состояниях (беременность, лактация и другие). Наряду с часто встречающимися и легко диагностируемыми формами анемии имеются и очень редкие анемические синдромы, требующие для диагностики сложных методических приемов.

Наиболее широко в клинической практике распространены анемии, развивающиеся в результате дефицита железа в организме. По данным ВОЗ, более 1 миллиарда человек на земле имеют дефицит железа. Даже в развитых странах Европы и Северной Америки железодефицитной анемией страдают 7,5-11 процентов всех женщин детородного возраста, а у 20-25 процентов наблюдается скрытый тканевый дефицит железа. Значительно с большей частотой распространены железодефицитные анемии в странах Азии, Африки и Латинской Америки. А что касается России, то железодефицитными анемиями и скрытыми формами дефицита железа страдает 50-80 процентов населения.

Исходя из выше изложенного, становится ясной не только биологическая, но и социальная значимость проблемы.

Разные формы анемий характеризуются присущими им морфологическими и биохимическими особенностями, и соответственно, разные формы анемий требуют своих диагностических подходов. При этом помимо рутинных методов определения показателей крови для дифференциальной диагностики зачастую требуются дополнительные методы исследования, позволяющие определить причину и патогенетическую сущность происходящих в организме изменений.

Особенно важным представляется изучение изменений биохимических показателей, характерных для разных видов анемий.

Цель данной работы - определить роль биохимических показателей в диагностике анемий по литературным данным.

В связи с поставленной целью необходимо решить следующие задачи:

. Изучить клиническую картину разных видов анемий.

. Выяснить динамику биохимических показателей при острых и хронических анемиях.

. Изучить современные методы лабораторной диагностики анемий.

1. Аналитический обзор

.1 Общее понятие анемии

Кровь состоит из клеток трех типов: красных кровяных телец (эритроцитов), белых кровяных телец (лейкоцитов) и тромбоцитов. Эритроциты содержат гемоглобин - железосодержащий пигмент, придающий крови красный цвет и переносящий кислород от легких к тканям тела. При снижении концентрации красных кровяных телец увеличивается нагрузка на сердце - ему приходится "прокачивать" большее количество крови, чтобы обеспечить нормальный доступ кислорода к тканям.

Анемия - это патологическое состояние, характеризующееся уменьшением содержания гемоглобина или количества эритроцитов в единице объема крови и, вследствие этого, ведущее к развитию гипоксии. Анемия, таким образом, расценивается как патологический процесс, протекающий с нарушением деятельности различных органов и систем [Воробьев, 1985, 2001; Внутренние болезни, 2000; Гольдберг, 2000; Шулутко, Макаренко, 2005]. Термин "анемия" без детализации не определяет конкретного заболевания, то есть анемию следует считать одним из симптомов различных патологических состояний.

Анемия возникает во все периоды жизни человека не только при различных заболеваниях, но и при некоторых физиологических состояниях, например, при беременности, в период усиленного роста, лактации. Важное социальное значение имеет проблема анемий у детей раннего возраста, так как анемия в этом возрасте может привести к нарушениям физического развития и обмена железа. Развитие анемии может быть связано с пубертатным и климактерическим периодом, гормональными нарушениями, характером питания, заболеваниями пищеварительного тракта, печени, почек, нарушением всасывания, аутоиммунными состояниями, оперативным вмешательством и другими факторами. Нередко анемия является самостоятельным или сопутствующим симптомом многих внутренних заболеваний, инфекционных и онкологических болезней [Городецкий, Годулян, 2004; Гринфельд, 2008; Дворецкий, 2002; Коровина, 1998].

Различные виды анемий выявляются у 10-20 процентов населения, в большинстве случаев - у женщин. Наиболее часто встречаются анемии, связанные с дефицитом железа (около 90 процентов всех анемий), реже - анемии при хронических заболеваниях, еще реже - анемии, связанные с дефицитом витамина В12 или фолиевой кислоты (мегалобластные), гемолитические и апластические [Гемолитическая анемия, 2003; Цветкова, 2009]. Необходимо помнить, что анемия может иметь сложное происхождение. Возможно сочетание железодефицитной и В12-дефицитной анемий.

.2 Основные сведения об эритропоэзе

Для понимания механизма возникновения анемий необходимо представить, хотя бы в общих чертах, процесс образования эритроцитов.

Формирование эритроцитов (эритропоэз) происходит в трубчатых и плоских костях в так называемом кроветворном микроокружении. Прежде чем выйти в кровь, эритроциты последовательно проходят несколько стадий пролиферации и дифференцировки в составе эритрона - красного ростка кроветворения.

Родоначальницей всего гемопоэза является полипотентная (то есть способная к дифференцировке в разных направлениях) стволовая клетка крови. Наиболее ранние эритроидные предшественники - это БОЕ и продукт ее дифференциации - КОЕ. Последняя даёт начало проэритробласту - самому раннему из эритроидных клеток-предшественников, морфологически различимых в костном мозге. После четырех-пяти митотических делений и соответствующих морфологических изменений проэритробласт становится зрелым безъядерным эритроцитом, который циркулирует в периферической крови в течение 90-120 дней, после чего удаляется селезенкой и другими структурами ретикулоэндотелиальной системы [Афанасьев, 2002; Руководство по гематологии, 2005; Хоффбранд, Петтит, 2007; Цветной атлас клеток … , 2007; Шиффман, 2007].

Фактором роста, необходимым для развития эритроидных клеток, начиная со стадии колониеобразующей эритроидной единицы, является эритропоэтин - гормон, продуцируемый в перитубулярных клетках почек. Его задача состоит в поддержании необходимого объема (в соответствии с потребностями организма в кислороде) эритроцитарной массы. Высвобождение эритропоэтина регулируется специальным механизмом и зависит от содержания кислорода в тканях почек [Руководство по гематологии, 2005; Хоффбранд, Петтит, 2007; Цветной атлас клеток … , 2007; Шиффман, 2007].

Эритроциты - высокоспециализированные клетки, функцией которых является перенос кислорода из легких к тканям тела и транспорт диоксида углерода (CO2) в обратном направлении. Клетка имеет форму двояковогнутого диска, что обеспечивает наибольшую площадь поверхности газообмена. Диаметр эритроцита составляет 8 мкм, однако особенности клеточного скелета и структуры мембраны позволяют ему претерпевать значительную деформацию и проходить через капилляры с просветом в 2-3 мкм. Такая способность к деформации обеспечивается за счет взаимодействия между белками мембраны и цитоплазмы. Дефекты этих белков ведут к морфологическим и функциональным нарушениям эритроцитов [Глушен, 2003; Руководство по гематологии, 2005; Хоффбранд, Петтит, 2007; Шиффман, 2007]

Транспорт кислорода обеспечивается гемоглобином (Hb), на долю которого приходится приблизительно 98 процентов массы белков цитоплазмы эритроцитов (в отсутствии других структурных компонентов). Гемоглобин является тетрамером, в котором каждая белковая цепь несёт гемм - комплекс протопорфирина IX с ионом двухвалентного железа, кислород обратимо координируется с ионом Fe2+ гемоглобина, образуя оксигемоглобин HbO2.

Эффективность функционирования гемоглобина зависит от величины поверхности соприкосновения эритроцита со средой. Суммарная поверхность всех эритроцитов крови в организме тем больше, чем меньше их размеры. У низших позвоночных эритроциты крупные (например, у хвостатого земноводного амфиумы - 70 мкм в диаметре), эритроциты высших позвоночных мельче (например, у козы - 4 мкм в диаметре). У человека диаметр эритроцита составляет 7,2-7,5 мкм, толщина - 2 мкм, объём - 76 - 110 мкм³ [Афанасьев, 2002; Лабораторная гематология, 2006; Шиффман, 2007].

В одном литре крови содержится эритроцитов:

· у мужчин 4,5·1012/л - 5,5·1012/л (4,5 - 5,5 млн в 1 мм³ крови);

· у женщин - 3,7·1012/л - 4,7·1012/л (3,7 - 4,7 млн в 1 мм³);

· у новорождённых - до 6,0·1012/л (до 6 млн в 1 мм³);

· у пожилых людей - 4,0·1012/л (меньше 4 млн в 1 мм³).

При различных заболеваниях крови возможно изменение цвета эритроцитов, их размеров, количества, а также формы; они могут принимать, например, серповидную, овальную, сферическую или мишеневидную форму.

Изменение формы эритроцитов называется пойкилоцитозом. Сфероцитоз (сферическая форма эритроцитов) наблюдается при некоторых формах наследственной анемии. Эллиптоциты (эритроциты овальной формы) встречаются при мегалобластной и железодефицитной анемии, талассемиях и других заболеваниях. Акантоциты и эхиноциты (эритроциты шиповатой формы) встречаются при поражениях печени, наследственных дефектах пируваткиназы. Мишеневидные эритроциты - это клетки с бледной тонкой периферией и центральным утолщением, содержащем скопление гемоглобина. Встречаются при талассемиях и других гемоглобинопатиях, интоксикации свинцом. Серповидные эритроциты - признак серповидноклеточной анемии. Встречаются и другие формы эритроцитов.

При изменении кислотно-щелочного баланса крови в сторону закисления (рН от 7,43 до 7,33) происходит склеивание эритроцитов в виде монетных столбиков, либо их агрегация [Меньшиков, 2008].

.3 Патогенетическая классификация анемий

При очень значимом распространении различных видов анемий единой классификации этого, одного из самых массовых заболеваний человечества, не существует. Несмотря на некоторую условность, широкое применение в клинической практике нашла патогенетическая классификация анемии (с учетом различных этиологических факторов и клинико-морфологических проявлений) [Воробьев, 1985; Дворецкий, 2001].

Механизмы развития анемии, несмотря на разнообразие ее конкретных причин, можно отнести к трем основным типам:

нарушение продукции эритроцитов костным мозгом (эритропоэза);

гемолиз (разрушение) или укорочение продолжительности жизни эритроцитов в крови, в норме составляющей четыре месяца;

кровотечение, острое или хроническое.

В каждом конкретном случае возможно любое сочетание этих механизмов.

Согласно классификации, предложенной Л.И. Идельсоном в 1975 году, и которая актуальна до настоящего времени, среди анемий, связанных с нарушенным кровообразованием выделяют:

. Анемии, связанные с нарушением образования гемоглобина:

анемии, связанные с дефицитом железа (железодефицитные);

анемии, связанные с нарушением синтеза или утилизации порфиринов (сидероахрестические).

. Анемии, связанные с нарушением синтеза ДНК и РНК (мегалобластные):

анемии, связанные с дефицитом витамина В12 (В12 - дефицитная);

анемии, связанные с дефицитом фолиевой кислоты (фолиеводефицитная анемия).

. Анемии, связанные с нарушением процессов деления эритроцитов (дизэритропоэтические анемии):

наследственные дизэритропоэтические анемии;

приобретенные дизэритропоэтические анемии.

. Анемии, связанные с угнетением пролиферации клеток костного мозга (гипопластические и апластические анемии):

наследственные формы;

приобретенные формы.

## Нарушение или снижение продукции эритроцитов лежит обычно в основе анемий, сопутствующих онкологическим заболеваниям, хроническим инфекциям, болезням почек, эндокринной недостаточности, белковому истощению. В ряде случаев, по-видимому, играет роль снижение продукции эритропоэтина - выделяемого почками гормона, стимулирующего эритропоэз. К анемии приводит также дефицит некоторых веществ, необходимых для образования эритроцитов: железа, витамина В12 и фолиевой кислоты, а в редких случаях, в основном у детей, - недостаточность витамина C и пиридоксина [Митерев, Воронина, 1992; Дворецкий, Воробьев, 1994; Воробьев, 2001; "Старые" и "новые" опухоли … 2001; Птушкин, 2007].

При анемиях, обусловленных гемолизом, причиной могут служить дефекты в самих эритроцитах, ускоряющие их разрушение в крови, например нарушение структуры самих клеток или молекулы гемоглобина либо изменение активности внутриклеточных ферментов. В других случаях, например при переливании несовместимой крови и при гемолитической болезни новорожденных, эритроциты разрушаются присутствующими в плазме крови антителами. Иногда причиной повышенного гемолиза эритроцитов являются заболевания селезенки.

Согласно действующей классификации, это следующие виды анемий:

. Наследственные гемолитические анемии:

наследственные гемолитические анемии, связанные с нарушением мембраны эритроцитов;

наследственные гемолитические анемии, связанные с нарушением активности ферментов эритроцитов;

наследственные гемолитические анемии, связанные с нарушением структуры или синтеза гемоглобина.

. Приобретенные гемолитические анемии:

гемолитические анемии, связанные с воздействием антител (изоиммунные, гетероиммунные, аутоиммунные);

связанные с изменением структуры мембраны, обусловленным соматической мутацией (болезнь Маркиафавы-Микели);

связанные с механическим повреждением оболочки эритроцитов;

обусловленные химическим повреждением эритроцитов;

обусловленные разрушением эритроцитов паразитами (плазмодий малярии).

Анемии, связанные с кровопотерей - это:

острые постгеморрагические анемии;

хронические постгеморрагические анемии.

Кровотечение приводит к хронической анемии, только если оно массивное или длительное. За исключением железа в гемоглобине, все составные части эритроцитов легко восстанавливаются. Таким образом, хроническая кровопотеря вызывает анемию в силу истощения запасов железа в организме, которое развивается, несмотря на то, что при этом в кишечнике возрастает всасывание железа, содержащегося в пище. Чаще всего кровотечения возникают в матке (из-за менструаций или опухолей) и желудочно-кишечном тракте (язвы, опухоли, геморрой).

По характеру течения анемия может быть острой и хронической.

Приведенная классификация в известной мере условна, так как за основу ее принимается лишь один патогенетический фактор: потеря крови, дефицит железа или цианокобаламина (витамина В12), органическое поражение костного мозга, гемолиз. Фактически же патогенез анемии в большинстве случаев более сложен. Например, при беременности, злокачественных новообразованиях, хроническом энтероколите в развитии анемии участвует одновременно несколько патогенетических факторов.

.4 Характеристика отдельных видов анемий

Анемии, связанные с нарушением синтеза порфиринов (сидероахрестические анемии) - это наследственные формы анемий (у мужчин дефект сцеплен с Х-хромосомой). Патогенез наиболее частой формы связан с нарушением синтеза протопорфирина, что мешает связывать железо, и оно накапливается в организме. В итоге - железа в сыворотке много, однако эффективного эритропоэза не происходит. Анемия характеризуется гипохромией эритроцитов, повышением уровня сывороточного железа, в костном мозге накапливается большое количество сидеробластов, а в органах - отложение железа с картиной гемосидероза. Со временем в печени развивается цирроз, что проявляется печеночной недостаточностью, изменения в миокарде приводят к сердечно-сосудистой недостаточности, склеротические процессы в поджелудочной железе проявляются симптомами сахарного диабета [Руководство по гематологии, 2005].

Мегалобластные анемии - результат нарушения синтеза ДНК, когда страдают, прежде всего, быстро обновляющиеся ткани - кроветворная и эпителий ЖКТ. Деление клеток замедляется, а цитоплазма созревает нормально, в результате чего клетки становятся крупными, содержание РНК превышает ДНК. На уровне костного мозга появляются мегалобласты - предшественники эритроцитов. Они разрушаются уже в самом костном мозге, и продукция эритроцитов снижается. Таким образом, эритропоэз оказывается неэффективным. В то время как для нормального кроветворения необходим витамин В12 (внешний фактор), который всасывается в желудке и в тонкой кишке только в присутствии внутреннего фактора. Внутренний фактор (так называемый фактор Касла) вырабатывается добавочными клетками слизистой оболочки желудка. В дальнейшем этот комплекс поступает в печень и активирует фолиевую кислоту. Витамин В12 и активированная фолиевая кислота стимулируют эритропоэз по эритробластическому, или нормальному пути. При дефиците витамина В12 и фолиевой кислоты развиваются анемии, которые носят название пернициозных или пернициозоподобных [Руководство по гематологии, 2005].

Пернициозная анемия - это классическое проявление недостаточности в организме витамина В12. Витамин В12 содержится в мясе, молоке, молочных продуктах и яйцах. Особенно чувствительны к дефициту этого витамина костный мозг и ткани нервной системы; в отсутствие лечения - развиваются анемия и дегенерация нервов. Пернициозная анемия чаще всего встречается у взрослых и связана с атрофией желудка.

Кроме истинной пернициозной анемии, выделяют симптоматические пернициозные анемии: при болезнях и резекции желудка; при резекции тонкой кишки либо глистных инвазиях; при экзогенной недостаточности витамина В12 и фолиевой кислоты [Хоффбранд, Петтит, 2007].

Фолаты - витамины группы В, имеющиеся в листовых овощах (бобовые, салат, шпинат, брокколи), фруктах, грибах, животных белках (печени, мясе), дрожжах. Фолиевая кислота необходима для синтеза ДНК. Развитие фолиеводефицитной анемии возможно в результате воздействия некоторые лекарственных средств и токсинов, противосудорожных препаратов, при повышенном расходе у беременных, а также при циррозе печени. Метаболизм фолатов нарушает алкоголь.

Анемии при дефиците витамина В6 возникают редко. Витамин В6 способствует синтезу порфиринов, его дефицит иногда возникает при длительном применении противотуберкулезных препаратов у взрослых, у детей при искусственном вскармливании [Румянцев, Тарасова, Чернов, 2006].

Апластическая анемия развивается в результате неспособности организма производить эритроциты в достаточном количестве [Михайлова, 2001; Хоффбранд, Петтит, 2007]. При этой анемии в костном мозге практически отсутствует ткань, образующая кровяные клетки. В ряде случаев причиной являются экзогенные факторы (лучевая энергия, токсичные вещества, медикаментозные воздействия, в некоторых случаях причина остается невыясненной). Эндогенные факторы (наследственные, семейные) ведут к потере способности костномозговых клеток к регенерации. В результате - костный мозг плоских костей замещается жировой тканью. Среди наследственных форм апластических анемий различают семейную гипопластическую анемию Фанкони, которая имеет хроническое течение. Для нее характерны гипохромия эритроцитов, геморрагический синдром, пороки развития. Другая наследственная форма гипопластической анемии - анемия Эрлиха. Она имеет острое и подострое течение. При ней значительно выражена кровоточивость, признаки регенерации костного мозга отсутствуют, в исходе может развиваться сепсис. Следует отметить, что эти анемии развиваются в течение длительного времени, поэтому в клинических и морфологических проявлениях ведущим является состояние хронической гипоксии. Наиболее распространенные симптомы гипо- и апластическихх анемий: усталость, одышка, ускоренное сердцебиение, бледность, сыпь и плохая заживляемость ран и порезов.

Гемолитические анемии - анемии, при которых процесс разрушения эритроцитов преобладает над процессом кровообразования. Если продолжительность жизни эритроцитов в норме составляет 100 - 120 дней, то при гемолитической анемии она укорачивается до 12 - 14 суток. Гемолиз эритроцитов происходит или внутри сосудов или за их пределами. При этом распадается гем, и из его частей синтезируются два пигмента: гемосидерин и билирубин. Быстрый массивный гемолиз опасен возникновением острого нефроза выделения (гемоглобинурийного нефроза) и развитием острой почечной недостаточности [Хоффбранд, Петтит, 2007]. Общими морфологическими изменениями в органах и тканях являются гиперпластические процессы в костном мозге, появление очагов экстрамедуллярного кроветворения, общий гемосидероз, гемолитическая желтуха, дистрофия паренхиматозных элементов в органах.

Гемолитические анемии, обусловленные внутрисосудистым гемолизом, возникают при токсических воздействиях (гемолитические яды, обширные ожоги), при инфекциях (сепсис, малярия), переливании несовместимой крови (посттрансфузионные).

Посттрансфузионные анемии по группе и резус-фактору крови делятся на изоиммунные (при гемолитической болезни новорожденных: у резус-отрицательной матери вырабатываются антитела к эритроцитам плода) и аутоиммунные (появляются при группе ревматических болезней, медленных вирусных инфекциях, медикаментозных воздействиях, пароксизмальной холодовой гемоглобинурии).

Для гемолитических анемий, обусловленных внесосудистым (внутриклеточным) гемолизом, характерен распад эритроцитов в макрофагах селезенки, костного мозга, лимфатических узлов, печени. В клинической картине типична триада: анемия, спленомегалия (увеличение селезенки), желтуха. Один из основных признаков гемолитической анемии - выраженный ретикулоцитоз в периферической крови (ретикулоциты указывают на хорошую регенераторную способность костного мозга);

Выделяют три следующих вида:

1. Наследственные гемолитические анемии, связанные с нарушением мембраны эритроцитов, составляют группу эритроцитопатий (наследственный сфероцитоз, наследственный эллиптоцитоз, овалоцитоз);

2. Эритроэнзимопатии - нарушение активности ферментов эритроцитов. В патогенезе большую роль играет недостаток активности ферментов гликолиза и АТФ. Болезнь проявляется острыми гемолитическими кризами, реже течет как хроническая гемолитическая;

3. Гемоглобинопатии - в основе лежит нарушение синтеза гемоглобина (талассемия, в основе которой лежит нарушение синтеза одной из белковых цепей гемоглобина).

Из группы мембранопатий следует выделить наследственный микросфероцитоз (болезнь Минковского-Шоффара), при котором наблюдается снижение количества спектрина (особого белка в клеточной мембране эритроцитов), что повышает ее проницаемость для воды и ионов натрия. Клетки набухают, вместо нормальных двояковогнутых дисковидных эритроцитов образуются клетки округлой формы (микросфероциты), которые быстро разрушаются селезенкой, а их гемоглобин поглощается макрофагами (внутриклеточный гемолиз).

Среди так называемых количественных гемоглобинопатий - группа талассемий [Руководство по гематологии, 2005; Хоффбранд, Петтит, 2007; Шиффман, 2007]. Талассемия - тяжелая форма анемии, при которой красные кровяные тельца быстро разрушаются, а железо оседает в коже и жизненно важных органах. Анемия этого типа вызвана снижением выработки гемоглобина или нарушением механизма его производства. Гемоглобин - молекула в составе эритроцитов. В гемоглобине содержится белковые цепочки двух типов - альфа- и бета-цепочки. Любой дефицит этих цепочек вызывает нарушение механизма образования, размера и формы эритроцитов. В соответствии с дефектной молекулой гемоглобина выделяют два типа талассемии - альфа-талассемию и бета-талассемию. Обе формы талассемии вызваны генетическими нарушениями и передаются по наследству. По сути, это самое распространенное генетическое заболевание в мире.

Серповидно-клеточная анемия относится к качественным гемоглобинопатиям S. Она также вызвана разрушением эритроцитов. Серповидные клетки отличаются от нормальных красных кровяных телец тем, что они намного жестче и имеют неправильную форму. Их форма мешает им легко продвигаться по кровеносным сосудам, поэтому они застревают в мелких кровеносных сосудах, что затрудняет нормальное кровообращение. Несмотря на то, что организм атакует и разрушает эти серповидные клетки, он не может производить новые клетки настолько быстро, чтобы заменить разрушенные. Это приводит к уменьшению концентрации эритроцитов в крови, что, в свою очередь, приводит к анемии и хронической гипоксии. Серповидно-клеточная анемия обычно вызвана генетическими дефектами или наследственным заболеванием.

Приобретенные гемолитические анемии вызываются множеством различных факторов: механическим повреждением эритроцитов (так называемая маршевая гемоглобинурия, при протезировании клапанов сердца и сосудов), токсическими воздействиями органических веществ, металлов (например, меди), укусами змей и пауков (биологический гемолиз), а также могут быть индуцированы некоторыми лекарственными препаратами.

Под АИГА понимают такую форму иммунной гемолитической анемии, при которой антитела вырабатываются против собственных неизмененных антигенов. В этих случаях иммунная система воспринимает собственный антиген как чужой и вырабатывает против него антитела. В зависимости от того, на каком плацдарме разворачиваются события, объектом уничтожения становятся либо эритроциты периферической крови, либо эритрокариоциты костного мозга. В первом случае развивается АИГА с неполными тепловыми агглютининами (чаще), АИГА с тепловыми гемолизинами (реже), АИГА с полными холодовыми агглютининами или АИГА с двухфазными гемолизинами (редкое заболевание). Во втором случае - развивается аутоиммунная гемолитическая анемия с антителами против антигена эритрокариоцитов (или парциальная красноклеточная аплазия). Независимо от клеточной направленности, все АИГА могут быть симптоматическими (на фоне хронических заболеваний, при некоторых ревматических болезнях, медленных вирусных инфекциях, медикаментозных воздействиях) или идиопатическими (то есть без явной причины). При всем множестве причин, наиболее вероятная основа патологического процесса большинства форм аутоиммунных гемолитических анемий - срыв иммунологической толерантности к собственному антигену [Руководство по гематологии, 2005; Шиффман, 2007].

ЖДА - это широко распространенное патологическое состояние, характеризующееся снижением количества железа в организме (в крови, костном мозгу и депо) [Аркадьева, 1999; Дворецкий, 2003; Цветкова, 2009; Постникова, Малышева, Касатова, 2010; Ершова, 2011]. Железо является жизненно необходимым элементом, принимающим участие в транспорте кислорода, окислительно-восстановительных процессах, иммунных реакциях. Особенно велико его значение в гемопоэзе, при этом суточная потребность в железе для нужд кроветворения обеспечивается процессами физиологического распада эритроцитов.

При снижении количества железа в организме нарушается синтез гема, представаляющего собой часть моллекулы гемоглобина, а также белков, содержащих железо (миоглобин, железосодержащие тканевые ферменты). Поэтому в большинстве случаев ЖДА предшествует и способствует тканевый дефицит железа.

В депонировании железа основное значение имеет ферритин и гемосидерин. Транспорт железа в организме осуществляет белок трансферрин. Ферритин - основной показатель запасов железа в организме, играет важную роль в поддержании железа в биологически полезной форме. В то же время, ферритин защищает организм от токсического действия других металлов, многие из которых токсичны (например, связывает ионы алюминия, бериллия). Ферритин содержится во всех клетках и жидкостях организма. Трансферрин - единственный плазменный белок, участвующий в транспорте железа от места его абсорбции (тонкая кишка) до места его использования (костный мозг, печень, селезенка).

При разрушении эритроцитов в селезёнке, печени и костном мозге железо, высвобождаемое из гема, трансферрин транспортирует в костный мозг; часть железа включается в состав ферритина и гемосидерина. Трансферрин, "нагруженный" железом, разносится с током крови по организму. Железо, меняя степень окисления с Fe+++ на Fe++, освобождается от трансферрина. Белок вновь возвращается в кровеносное русло, а железо немедленно связывается так называемыми хелаторами, такими, как цитрат или аскорбиновая кислота. После этого железо может быть использовано для синтеза гемоглобина и железосодержащих ферментов или заключено для хранения в ферритин [Садовникова, 2010; Хоффбранд, Петтит, 2007].

Таким образом, ионы железа постоянно находятся в связанной форме. Главные органы, выполняющие функцию хранения железа, - это печень, которая содержит около 700 мг железа, селезенка и костный мозг. Мышцы также важны из-за их большой массы, хотя реальная концентрация хранимого в них железа низкая - 40 мг/кг.

При отрицательном балансе обмена железа вначале расходуется железо из депо (латентный дефицит железа), затем возникает тканевый дефицит железа, проявляющийся нарушением ферментативной активности и дыхательной функции в тканях, и только позже развивается железодефицитная анемия.

Причиной дефицита железа является нарушение его баланса в сторону преобладания расходования железа над поступлением, наблюдаемое при различных физиологических состояниях или заболеваниях. Организм только в незначительной степени может регулировать поступление железа из пищи и не контролирует его расходование.

Различают многообразные клинические формы ЖДА, этиология которых различна, но патогенез единый - недостаток в организме железа.

Основными причинами дефицита железа в организме являются:

недостаточное поступление с пищей (неадекватное питание, вегетарианская диета, недоедание);

кровопотери различного генеза (постгеморрагические анемии);

нарушение усвоения железа (при ахилии, резекции тонкой кишки, желудка, хроническом энтероколите);

повышенная потребность в железе (беременность, лактация, усиленный рост ребенка);

врожденный дефицит железа;

нарушение транспорта железа вследствие дефицита трансферрина.

Основной причиной ЖДА у взрослых является хроническая кровопотеря (кровотечения при геморрое, грыже пищеводного отверстия диафрагмы, язве желудка или двенадцатиперстной кишки, опухолях пищевого канала, а также носовые, почечные) [Внутренние болезни, 2000; Шулутко, Макаренко, 2005; Дворецкий, 2009].

У женщин к развитию анемии ведет сочетание ряда факторов: нарушения менструального цикла, значительные затраты железа в связи с повторными беременностями и лактацией, обильные менструальные кровопотери (особенно в преклимактерическом периоде и при наличии миомы матки). У молодых девушек в период полового созревания анемия может быть обусловлена дисгормональными явлениями. Замечено, что от ЖДА страдает почти 20 процентов женщин детородного возраста и 50 процентов беременных женщин [Железодефицитная анемия беременных, 2003; Тайпурова, 2008]. А по данным ВОЗ, скрытый дефицит железа у беременных достигает 100 процентов, анемия - от 21 до 80 процентов. Нехватка железа в организме беременной женщины чревата развитием гипоксии с дальнейшей цепочкой вторичных метаболических расстройств, в том числе фетоплацентарной недостаточностью [Садовникова, 2010].

Причины развития ЖДА у детей раннего возраста - недоношенность, раннее искусственное вскармливание, одностороннее питание, частые инфекции и так далее. У новорожденных детей ЖДА может возникать при недостатке железа у матери, а также у детей от многоплодной беременности [Коровина, 1998; Румянцев, Тарасова, Чернов, 2006].

Алиментарный фактор в развитии ЖДА имеет место у тех людей, которые употребляют в пищу недостаточное количество продуктов, содержащих железа. Следует, однако, сказать, что количество железа в продукте питания не корреллирует с его способностью к всасыванию в желудочно-кишечном тракте. Так, из продуктов питания растительного происхождения: до 7 процентов от содержания железа усваивается из бобов сои, из фруктов - не более 3 процентов. Мясные продукты обладают большим процентом усвоения - до 22 процентов железа из телятины (так как телятина содержит до 90 процентов железа в виде гема), до 11 процентов из рыбных изделий (железо преимущественно в виде ферритина и гемосидерина). Кроме того, относительно низкое поступление витамина С из свежих фруктов, овощей также приводит к нарушению обмена железа, поскольку витамин С способствует усвоению железа из пищи, требуется для нормального кроветворения и влияет на обмен других витаминов.

С другой стороны, избыточное поступление в организм фосфатов, оксалатов, кальция, цинка, витамина Е могут снижать способность организма усваивать железо. Фосфаты, входящие в состав яиц, сыра и молока, а также оксалаты, фитаты и танины, содержащиеся в черном чае, отрубях, кофе, препятствуют усвоению железа. Кальций способствует усвоению железа, за исключением тех случаев, когда дозы кальция чрезвычайно велики. Витамин Е и цинк в высоких концентрациях снижают усвоение железа.

Недостаточное всасывание железа бывает связано с разными заболеваниями ЖКТ (операции на желудочно-кишечном тракте, резекция желудка и двенадцатиперстной кишки, болезни поджелудочной железы).

ЖДА вторичные появляются при инфекционных, воспалительных или опухолевых болезнях. Анемии здесь развиваются по причине больших потерь железа при гибели клеток опухолей, распаде тканей, микро- или макрокровотечениях, повышении потребностей в железе в очагах воспаления. В результате недостаточного поступления железа с пищей или перераспределения его в зоне инфекционно-воспалительного очага постепенно резервы железа в организме истощаются, что приводит к нарушению синтеза гемоглобина.

Часто дефицит железа имеет смешанный генез, и уменьшению содержания железа способствуют сочетания факторов.

Среди всех анемий железодефицитная встречается наиболее часто и составляет около 80 процентов, а по некоторым авторам, до 98 процентов [Ершова, 2011]. Судя по отчету ВОЗ, 1,8 млрд. человек в мире страдают железодефицитной анемией и 3,6 млрд. - латентным дефицитом железа. По данным разных авторов, железодефицитная анемия существует у 27 процентов детей белой расы и у 40 процентов черной расы, а также у 20 процентов женщин детородного возраста. Распространенность железодефицитной анемии неодинакова в различных странах и зависит от социальных и экономических условий. Важным является факт, что, во-первых, болезнь поражает практически все возрастные группы, а во-вторых, - железодефицитные состояния встречаются во всех странах мира, но распространенность их различна. Латентный дефицит железа в Европе и России составляет 30-40 процентов, а в некоторых регионах (Север, Северный Кавказ, Восточная Сибирь) - 50-60 процентов [Цветкова, 2009]. Исходя из этого, ЖДА является общенациональной проблемой систем здравоохранения различных стран.

Анемия, возникающая у пациентов с инфекцией, воспалением, опухолями, хронической сердечной и почечной недостаточностью и продолжающаяся более одного месяца, обозначается как анемия хронических заболеваний [Руководство по гематологии, 2005; Копылов, Щекочихин, 2011].

АХЗ по распространенности занимает второе место среди анемий в популяции (после ЖДА). Так, анемия является частым сопутствующим заболеванием при хронической сердечной недостаточности [Шулутко, Макаренко, 2005; Копылов, Щекочихин, 2011], ее распространенность варьирует в широком диапазоне от 4 до 61 процентов (в среднем 18 процентов), в зависимости от тяжести основного заболевания. Считается, что увеличение распространенности у пациентов кардиологического профиля вызвано сочетанием нескольких факторов: увеличение возраста пациентов, что само по себе связано с более низким значением гемоглобина, возрастающей частотой болезни почек, высокой заболеваемостью сахарным диабетом.

У больных с хроническими заболеваниями почек наиболее важный вклад в развитие анемии вносит снижение продукции эритропоэтина вследствие уменьшения массы функциональных ткани почек. Кроме того, развитие анемии может быть вызвано сокращением продолжительности жизни эритроцитов до 70-80 дней [Дворецкий, 2009; Постникова, Малышева, Касатова, 2010; Копылов, Щекочихин, 2011].

АХЗ является наиболее распространенной среди пожилых людей [Гринфельд, 2008]. В преклонном возрасте нарушается утилизация железа; кроме того, в пожилом и старческом возрасте увеличивается количество заболеваний, сопровождающихся анемией (аутоиммунные заболевания, хронические болезни почек на фоне артериальной гипертензии различного генеза, дивертикулез кишечника, онкопатология), которые ведут к АХЗ.

Главной отличительной особенностью АХЗ от ЖДА являются нормальные запасы железа в организме, что может быть подтверждено биопсией костного мозга.

Что касается анемий, связанных с кровопотерями, то, по сути, они являются железодефицитными анемиями.

Острая постгеморрагическая анемия возникает вследствие острой кровопотери в течение короткого срока. Причинами такой кровопотери могут быть травмы или хирургические вмешательства, сопровождающиеся повреждением крупных сосудов, кровотечения из внутренних органов (желудочно-кишечное, легочное, вследствие разрыва маточной трубы при внематочной беременности). Патогенез складывается из явлений острой сосудистой недостаточности, обусловленной, в первую очередь, острым опустошением сосудистого русла, потерей плазмы; при массивной кровопотере наступает и гипоксия из-за потери эритроцитов, когда эта потеря уже не может быть компенсирована ускорением циркуляции за счет учащения сердечных сокращений. Непосредственно после кровопотери и в течение первых часов показатели красной крови существенно не снижаются ("скрытая анемия"), в связи с рефлекторным уменьшением объема сосудистого русла и компенсаторным поступлением в кровоток депонированной крови. Затем, в результате гипоксии, повышается содержание эритропоэтина, который стимулирует пролиферацию чувствительных к нему клеток костного мозга, в периферической крови появляются ретикулоциты. Дефицит железа может развиться после однократной массивной потери крови, превышающей запасы железа в организме. У здоровых лиц даже при значительной кровопотере состав крови восстанавливается в среднем через четыре - пять недель.

Хроническая постгеморрагическая анемия развивается чаще всего в результате повторных кровопотерь. Наибольшее практическое значение имеют желудочно-кишечные, геморроидальные и маточные кровотечения. В отдельных случаях к дефициту железа, особенно у женщин, могут приводить частые кровосдачи у доноров. В развитии хронической постгеморрагической анемии имеет значение даже незначительная скрытая кровопотеря, которая с течением времени приводит к истощению в организме запасов железа, особенно при способствующих этому условиях (ахилия, понос, хронический гепатит).

Чаще всего к отрицательному балансу железа приводят постоянные небольшие кровопотери и хронические скрытые кровотечения (5-10 мл/сут), а также повторные значительные кровотечения, после которых запасы железа не успевают восстановиться, и дальнейшие клинические проявления будут определяться нарастающим дефицитом железа.

Следует отметить, что симптомы анемии не являются специфичными для того или иного вида анемии, они представляют собой компенсаторную реакцию на гипоксию тканей. Наиболее частыми жалобами пациентов с анемией являются слабость, повышенная утомляемость, головная боль, одышка, повышенная сонливость. Главные симптомы анемии, слабость и бледность, отражают снижение концентрации гемоглобина, переносящего кислород из легких к периферическим тканям. Недостаточное снабжение кислородом жизненно важных мозговых центров приводит к рефлекторному включению механизмов, направленных на увеличение доставки кислорода клеткам, что, однако, сопровождается одышкой и учащением сердцебиений. Наличие и выраженность симптомов обычно соответствуют тяжести заболевания, но если концентрация гемоглобина снижается постепенно, организм может переносить даже сильно выраженную анемию, благодаря физиологическим способностям организма адаптироваться к новым условиям.

Ключом к выяснению природы анемии могут служить и некоторые другие симптомы. Так, желтуха, вызываемая резко увеличенным распадом гемоглобина, свидетельствует о гемолитическом процессе, а черный цвет кала может быть признаком кровотечения в кишечнике. Дефицит железа в организме ведет к множественным трофическим нарушениям (сухость кожи, ломкость ногтей, выпадение волос), так как ухудшается функция тканевых дыхательных ферментов, содержащих железо.

.5 Изменение биохимических показателей при анемиях

Необходимым этапом диагностики анемических состояний является лабораторное исследование [Лабораторная диагностика анемий, 2001; Назаренко, Кишкун, 2002; Клиническое руководство … , 2003; Антонов, Богомолова, Волков, 2008]. По результатам только одного анализа крови не всегда возможно поставить точный диагноз, но определение, в первую очередь, гемоглобина выявит возможные нарушения в деятельности организма и укажет на необходимость дополнительного обследования. А морфологическая картина эритроцитов может нацелить на патогенез анемии.

Характеристика анемических состояний была бы неполной, если бы не учитывала биохимических особенностей разных видов анемий.

Существует целый ряд тестов, позволяющих изучить динамику обмена железа в организме и ее нарушения. Для установления диагноза железодефицитная анемия используется биохимическое исследование сыворотки крови на предмет содержания железа, общей железосвязывающей способности сыворотки, а также уровня ферритина [Лабораторная диагностика анемий, 2001; Дворецкий, 2009; Садовникова, 2010; Ершова, 2011].

Уровень железа в сыворотке крови здоровых людей, определяемый по методу Henry, составляет 0,7 - 1,7 мг/л, или 12,5 - 30,4 мкмоль/л, при дефиците железа он снижается до 0,1 - 0,3 мг/л, или 1,8 - 5,4 мкмоль/л. Выявление пониженного уровня железа в сыворотке крови однозначно указывает на необходимость определения других показателей обмена железа (общая железосвязывающая способность сыворотки и уровень ферритина).

Общая железосвязывающая способность сыворотки отражает резервную "незаполненную" железом емкость транспортного белка - трансферрина. При железодефицитной анемии всегда наблюдается повышение ОЖСС, в отличие других типов гипохромных анемий. Увеличение уровня трасферрина при ЖДА связано с повышенным его синтезом в качестве компенсаторной реакции организма человека в ответ на тканевой дефицит железа. Это следует из механизма метаболизма железа. Около 1/3 (30-35 процентов) всего количества трансферрина сыворотки связано с железом (показатель насыщения трансферрина железом). Остальное количество трансферрина свободно и характеризует скрытую железосвязывающую способность сыворотки крови. Общая железосвязывающая способность сыворотки плазмы крови (или общий трансферрин сыворотки) при железодефицитной анемии увеличивается (норма 1,7 - 4,7 мг/л, или 30,6 - 84,6 мкмоль/л).

Информативным показателем оценки метаболизма железа является коэффициент насыщения трансферрина железом. У больных с дефицитом железа процент насыщения трансферрином снижается до 10 - 20, при этом увеличивается скрытая железосвязывающаяся способность плазмы.

Еще одним высокоспецифичным диагностическим признаком ЖДА является концентрация ферритина в сыворотке крови. Уровень ферритина отражает величину запасов железа в организме. У здоровых людей концентрация ферритина составляет 106 ± 21,5 мкг/л у мужчин и 65 ± 18,6 мкг/л у женщин. Поскольку истощение запасов железа является обязательным этапом формирования ЖДА, то снижение содержания ферритина (менее 15 мкг/л) - характерный признак не только железодефицитной, но и латентного дефицита железа. Однако этот показатель следует оценивать с осторожностью при сопутствующих острых воспалительных процессах, болезнях печени и некоторых опухолях. Дело в том, что ферритин принадлежит к классу острофазных белков и при перечисленных выше состояниях его синтез увеличивается, что при ЖДА может маскировать гипоферритинемию.

Из биохимических исследований в последние годы используется определение концентрации растворимых трансферриновых рецепторов, которая повышается при железодефицитной анемии [Цветкова, 2009].

Если уровень железа в сыворотке крови находится в пределах нормы или повышен, следует заподозрить у пациента анемию, связанную с нарушением синтеза порфиринов или талассемию и на следующем этапе диагностики целесообразно определить концентрацию ретикулоцитов.

По биохимическим параметрам, талассемия отличается от ЖДА признаками повышенного гемолиза (наличием гипербилирубинемии). Запасы железе повышены, судя по уровню ферритина сыворотки. При гетерозиготной β-талассемии повышается осмотическая резистентность эритроцитов. Почти у 75 процентов больных с этой формой анемии обнаруживается повышение уровня непрямого билирубина, чаще незначительное (24-31 мкмоль/л за счет непрямого).

Гемолитические анемии развиваются в результате ускоренного разрушения эритроцитов. При этом в большинстве случаев наблюдается внесосудистый гемолиз - разрушение эритроцитов макрофагами печени и селезенки (как и в норме). Внутрисосудистый гемолиз - разрушение эритроцитов прямо в сосудистом русле - встречается намного реже (как при острых, так и при хронических гемолитических анемиях). От того, где преимущественно происходит разрушение эритроцитов, зависят и клинические и лабораторные проявления [Хоффбранд, Петтит, 2007].

Из клинических симптомов, помимо бледности, нередко наблюдается легкая непостоянная желтуха и спленомегалия. Вследствие избыточной продукции билирубина могут образовываться пигментные желчные камни. Лабораторные данные, помимо ретикулоцитоза (из-за компенсаторного усиления эритропоэза), включают повышение содержания непрямого билирубина в сыворотке крови, стеркобилина в кале и уробилиногена в моче из-за гемолиза; гаптоглобин в сыворотке отсутствует.

## Примером состояния хронического гемолиза, обусловленного наследственным дефектом эритроцитов, может служить врожденная сфероцитарная анемия. Уровень гипербилирубинемии у больных сфероцитозом зависит от тяжести заболевания и периода исследования больного. Вне кризов содержание свободного или непрямого билирубина может колебаться от нормальных цифр до 57 - 76 ммоль/л, в период криза оно сильно повышается. Степень гипербилирубинемии связана не только с интенсивностью распада эритроцитов, но и со скоростью образования билирубина-диглюкоронида из свободного билирубина в печеночной клетке. При нормальном функциональном состоянии печени и сравнительно небольшом увеличении распада эритроцитов содержание билирубина у больных сфероцитозом вне криза может быть нормальным. Содержание уробилина в моче, как и при других формах гемолитической анемии, может быть повышенным. Однако у ряда больных реакция на уробилин может оказаться отрицательной, так как его содержание в моче в первую очередь зависит от состояния печени. Нормальная печень в состоянии освободить плазму от значительного количества уробилина. Прямой тест Кумбса, как правило, отрицателен [Руководство по гематологии, 2005].

Для приобретенных гемолитических анемий также характерны ретикулоцитоз и гипербилирубинемия. Для установления диагноза - аутоиммунная гемолитическая анемия применяется реакция Кумбса (антиглобулиновый тест). При проведении прямой пробы Кумбса изучаются эритроциты больного, выявляются фиксированные на них антитела. Имеется порог чувствительности - около 300 молекул Ig, - поэтому при их количестве менее 300 реакция может быть отрицательной. Таким образом, положительная реакция на 100 процентов указывает на фиксацию антител к эритроцитам, в то время как отрицательная не снимает диагноза аутоиммунная гемолитическая анемия. Непрямая проба определяет антитела в сыворотке больного.

Наиболее важна диагностика АИГА с неполными тепловыми агглютининами, поскольку она развивается остро, внезапно, и часто требует немедленной помощи. При частых гемолитических кризах возможно развитие вторичного токсического гемолитическго гепатита, с соответствующим изменением печеночных проб. На фоне гипербилирубинемии может развиться калькулезный холецистит. Кал темного цвета из-за повышения уровня стеркобилина, моча светло-желтая - в ней нет уробилина, но в последующем он может повышаться.

АИГА с тепловыми гемолизинами (гемолиз при этом внутрисосудистый), которая встречается значительно реже, представляет опасность в отношении развития острой почечной недостаточности вследствие гемоглобинемии (выход гемоглобина из эритроцитов), гемоглобинурии и слущивания эпителия почечных канальцев. В этих случаях актуальны биохимические исследования, характеризующие функциональное состояние почек: уровень креатинина сыворотки, мочевины, уровень натрия, кальция, хлоридов. При этой форме аутоиммунной гемолитической анемии повышена лактатдегидрогеназа до 1000 (в норме - до 400) из-за разрушения клеток. Реакция Кумбса отрицательная.

Витамин В12-дефицитную анемию сопровождает умеренная гипербилирубинемия. Билирубин повышается за счет непрямого до 28-47 ммоль/л. Это повышение уровня билирубина связано, в первую очередь, с внутрикостномозговым распадом эритрокариоцитов, содержащих гемоглобин, но в какой-то мере зависит и от повышенного распада эритроцитов периферической крови, так как продолжительность жизни периферических эритроцитов несколько укорочена.

Из биохимических тестов диагностическое значение имеет определение сывороточного витамина В12. В настоящее время для определения содержания витамина В12 повсеместно используется радиоиммунологический метод. Обычно исследуют одновременно уровень витамина В12 и фолиевой кислоты в сыворотке крови. Нормальное содержание витамина В12 в сыворотке200-1000пг/мл, при заболевании - снижается до 10 - 150 пг/мл [Руководство по гематологии, 2005].

Но следует помнить, что уровень витамина В12 в плазме крови не отражает потенциально существующей недостаточности данного витамина в тканях. Примерно треть пациентов, у которых уровень витамина В12 находился на нижней границе нормы, страдают анемией и неврологическими симптомами. Более надежным индикатором наличия недостаточности витамина В12 являются уровни метилмалоновой кислоты и гомоцистеина в сыворотке крови. Витамин В12 является кофактором в метаболизме этих веществ. Поэтому при его недостаточности уровень этих соединений в крови повышен. При этом нормальная концентрация метилмалоновой кислоты и гомоцистеина практически исключают недостаточность витамина В12.

В отличие от недостаточности витамина В12, недостаточность фолиевой кислоты обычно является результатом ее неадекватного потребления в пищевом рационе. У 90 процентов пациентов с недостаточностью фолиевой кислоты наблюдается повышенный уровень гомоцистеина. При этом уровень метилмалоновой кислоты остается нормальным, что является существенным фактором в дифференциальной диагностике с анемией, вызванной недостаточностью витамина В12 [Руководство по гематологии, 2005; Гринфельд, 2008]. В диагностике апластической анемии при биохимическом анализе крови выявляется повышенное содержание сывороточного железа, увеличение насыщения трансферрина. Повышение активности печеночных ферментов и содержания билирубина может наблюдаться при апластических анемиях, связанных с наличием у больного острого или хронического гепатита. Серповидно-клеточная анемия, одна из форм гемоглобинопатий, специфических биохимических маркеров не имеет, отмечается лишь умеренное содержание непрямого билирубина.

В настоящее время считается, что в основе анемии хронических заболеваний лежит иммуно-опосредованный механизм: цитокины и клетки ретикулоэндотелиальной системы вызывают изменения в гомеостазе железа, пролиферации эритроидных предшественников, продукции эритропоэтина и продолжительности жизни эритроцитов [Копылов, Щекочихин, 2011].

Открытие гепсидина (hepcidin) - железорегулирующего острофазового белка - позволило во многом прояснить связь между иммунным механизмом нарушения гомеостаза железа и развитием анемии хронических заболеваний: именно через усиление синтеза в печени гепсидина под влиянием воспалительных стимулов происходят снижение всасывания железа в кишечнике и блокирование высвобождения железа из макрофагов.

В этих случаях спектр биохимических исследований будет включать и функциональные характеристики соответствующих систем организма. При подозрении на патологию почек - необходимо исследование сыворотки крови на мочевину и креатинин.

2. Материал и методы исследований

.1 Характеристика материала исследования

Планируется исследование пациентов в условиях лаборатории городской поликлиники, планируется определение показателей, характеризующих различные анемические состояния.

Для анализа будет использоваться периферическая кровь человека, которую берут путем прокола пальца стерильным скарификатором. Кровь с поверхности пальца набирается индивидуальным стерильным капилляром Панченкова. Под общим анализом крови подразумевается совокупность тестов по определению количества эритроцитов и лейкоцитов, а также характеристика эритроцитов и их распределения в соответствии с размером. Дополнительно исследуются количество тромбоцитов и ретикулоцитов.

В диагностике анемий исследование мазка периферической крови имеет решающее значение. Особенно, если удается выявить специфические нарушения морфологии эритроцитов, а также изменения структуры и количества лейкоцитов и тромбоцитов. Исследование мазка периферической крови нередко позволяет установить окончательный диагноз или значительно сузить выбор из возможных нозологических форм, для разграничения которых надо использовать дополнительные исследования. Для этого на предметном стекле готовится тонкий мазок крови, в котором, после соответствующей окраски, осуществляется подсчет лейкоцитарной формулы.

Для исследования биохимических параметров необходима кровь, взятая посредством венепункции (обычно локтевой вены).

При проведении исследования особые требования предъявляются к технике взятия крови, поскольку неизбежное при этом разрушение эритроцитов и увеличение содержания в сыворотке свободного гемоглобина может оказать существенное влияние на результаты.

2.2 Методы исследований

.2.1 Определение СОЭ

Обработка крови начинается с разведения для определения СОЭ, так как для этого исследования требуется небольшое количество крови. Измеряется скорость оседания клеток крови в калиброванном капилляре в течение часа.

Для определения СОЭ в капилляр, промытый в реактиве (пятипроцентный раствор трехзамещенного цитрата натрия), набирается кровь до метки "0" (100 делений) и выдувается в пробирку с раствором цитрата натрия (соотношения крови и реактива 4:1).

При повышении уровней фибриногена и глобулинов сыворотки крови способствует соединению эритроцитов в виде монетных столбиков и их быстрому осаждению.

.2.2 Подсчет числа эритроцитов

Количественно анемия выражается снижением числа эритроцитов в единице объема.

Для подсчета эритроцитов кровь объемом 20 мкл выдувается на дно пробирки с 4 мл изотонического раствора (0,9 процентный раствор NaCl), и пипетка несколько раз промывается в верхнем слое жидкости (разведение 1:200). Эритроциты подсчитываются унифицированным методом под микроскопом в камере Горяева. Трактовка пониженного количества эритроцитов служат основой для дифференцировки разных видов анемий.

.2.3 Определение уровня гемоглобина

Унифицированная гемоглобин-цианидная методика определения гемоглобина основана на окислении Hb в метгемоглобин железосинеродистым калием. Интенсивность окраски пропорциональна содержанию Hb.

Ход определения: в пробирку к 5 мл трансформирующего раствора (ацетон-циангидрин - 0,5 мг, калий железосинеродистый - 0,2 г, натрия гидрокарбонат - 1 г, дистиллированная вода - до 1 л) добавляется 20 мкл крови (разведение 1:251); содержимое пробирки тщательно перемешивается и оставляется стоять на 10 мин.

Степень снижения концентрации гемоглобина - железосодержащего пигмента эритроцитов, придающего крови красный цвет, характеризует выраженность анемии.

.2.4 Определение цветового показателя

Среднее содержание гемоглобина в эритроците обозначается величиной МСН, которая рассчитывается по формуле:

МСН = [Нв] : эритроциты,

где МСН - среднее содержание гемоглобина в эритроцитах, пг (пикограмм), 10-12 г,

[Нв] - содержание гемоглобина, г/л,

Эритроциты - содержание эритроцитов в 1012/л.

Величина MCH отражает среднее содержание гемоглобина в эритроците, и по ней можно судить о характере анемии, но все же учитывая и другие показатели. Нормы этого показателя являются одинаковыми, как для мужчин, так и для женщин и составляют 27-34 пг.

Цветовой показатель (ЦП) - рассчитывается по формуле

ЦП = (Нв х 3) : эритроциты 10-10,

где Нв - содержание гемоглобина, г/л,

эритроциты - содержание эритроцитов в 1012/л.

Для пересчета цветового показателя в МСН цветовой показатель должен быть умножен на коэффициент 33,3.

MCV - средний объем эритроцитов. Рассчитывается по формуле:

MCV = (Ht х 10) : эритроциты

По цветовому показателю анемии делят:

Нормохромные;

Гипохромные;

Гиперхромные.

.2.5 Определение гематокрита

Гематокрит - это соотношение объёмов форменных элементов и плазмы крови.

Для определения гематокрита гематокритная трубочка заполняется кровью и центрифугируется, после чего отмечается, какую её часть занимают форменные элементы крови (эритроциты, лейкоциты, тромбоциты).

Гематокрит (Ht) выражается в процентах к общему объему крови (тогда он обозначается в процентах), или в литрах на литр (л/л) - тогда он обозначается десятичной дробью (с точностью до сотых), соответствующей доле форменных элементов в 1 литре крови (450 мл клеток в 1 литре крови равняется 0,45 л/л равняется 45 процентам). В норме величина гематокрита для мужчин составляет 41-51 процентов, для женщин 35-45 процентов.

.2.6 Подсчет количества лейкоцитов

Для подсчета количества лейкоцитов кровь объемом 20 мкл выдувается на дно пробирки с реактивом (раствор уксусной кислоты 3-5%-ный, 0,4 мл), и капилляр несколько раз промывается в верхнем слое жидкости (разведение 1:200). Далее лейкоциты подсчитываются в камере Горяева.

Трактовка пониженного или повышенного количества клеток служат основой для дифференцировки заболеваний крови, в том числе анемий.

.2.7 Исследование мазка крови

Просмотр мазка крови используется на предмет поиска клеток (эритроцитов, лейкоцитов) с аномальными размерами, цветом, формой, включениями.

Для подсчета лейкоцитарной формулы, исследования морфологии эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов готовятся препараты. Капля крови наносится на сухое обезжиренное предметное стекло и готовятся тонкие мазки с помощью шлифовального стекла. При приготовлении мазков не должно возникать артефактов. Морфологию эритроцитов лучше изучать в той части мазка, где они расположены в один слой и лишь соприкасаются друг с другом. Просмотр мазков ведется под микроскопом (марка "Ломо микмед 6")

Результат интерпретации просмотренных мазков крови подводит к объяснению причин анемии: дефицит, гемолиз, воспаление и прочее.

.2.8 Подсчет ретикулоцитов

Метод основан на РНК-специфической окраске мазка крови метиленовым синим.

Подсчет ретикулоцитов имеет особенно важное значение при диагностике гемолитических анемий, а также в оценке эффективности проводимой терапии при В12-дефицитной анемии.

.2.9 Определение среднего объема клетки (эритроцита)

По среднему объему эритроцита (СОК) также можно с определенной вероятностью судить о характере анемии. Этот параметр особенно важен для оценки гипопролиферативных анемий (т.е. с низким содержанием ретикулоцитов).

Если: СОК меньше 80 мкм3 - микроцитарная анемия,

мкм3 меньше либо равно СОК меньше 100 мкм3 - нормоцитарная анемия,

СОК больше либо равно 100 мкм3 - макроцитарная анемия.

Для правильной интерпретации среднего объема клетки (то есть эритроцита) необходимо исследование мазка периферической крови, поскольку:

одновременное наличие клеток малого и большого объема создает представление о нормальном размере эритроцитов;

включение в подсчет ретикулоцитов, имеющих большие размеры, чем зрелые эритроциты, ведет к завышению СОК;

эритроидные клетки аномальных размеров могут присутствовать в столь малом количестве, что не влияют на вычисляемый СОК.

В гематологических анализаторах количество эритроцитов, лейкоцитов, гемоглобина, гематокрита, MCV и MCH определяются автоматически.

.2.10 Определение метаболизма железа

Диагноз ЖДА предварительно устанавливают при сниженном уровне гемоглобина и низком цветовом показателе, на фоне типичных для железодефицитных симптомов (слабость, головокружение, повышенная утомляемость, трофические нарушения).

Но важнейшим показателем ЖДА является снижение уровня железа сыворотки (норма - 13-28 ммоль/л для мужчин; 11-26 ммоль/л для женщин), снижение концентрации ферритина, а также повышении уровня общей железосвязывающей способности сыворотки. ОЖСС - биохимический лабораторный показатель, характеризующий общее количество железа, которое может связаться с имеющимся в плазме трансферрином. Косвенно отражает количество трансферрина в плазме. Нормальные значения общей железосвязывающей способности сыворотки - 40,6-62,5 мкмоль/л.

Норма ферритина в крови для взрослых мужчин - 20-250 мкг/л. Для женщин норма анализа крови на ферритин - 10-120 мкг/л.

# Информативным показателем оценки метаболизма железа является коэффициент насыщения трансферрина железом, который рассчитывается по формуле:

# Насыщение трансферрина железом (%) = Железо (мкг/дл) : [Трансферрин (мг/дл) х 1,41] х 100 %

# При железодефицитной анемии этот показатель снижается (менее 15 процентов), а при перегрузке железом значительно повышается (более 50 процентов).

Предпочтительнее для анализа использовать утренний образец крови, поскольку уровень железа в крови колеблется в течение суток. Пункция вены должна быть проведена с минимальным застоем крови, кровь должна свободно поступать в пробирку. Кровь для определения железа необходимо собирать в герметично закрытые пробирки.

Из многочисленных методов количественной оценки содержания железа в сыворотке крови наибольшее распространение получили методы определения железа по цветной реакции с батофенантролином. В основе этих методов лежит свойство двухвалентного восстановленного железа (Fe2+) образовывать яркоокрашенный комплекс с батофенантролином. Интенсивность окраски комплекса, соответствующую концентрации Fe2+ в сыворотке, определяют фотометрически. Предварительно белки сыворотки крови осаждают трихлоруксусной кислотой и восстанавливают сывороточное железо в двухвалентную его форму (Fe3+ в Fe2+) с помощью гидразина или тиогликолевой кислоты.

2.2.11 Определение уровня билирубина

Большинство используемых биохимических методов определения билирубина в крови основаны на реакции диазосочетания [Лабораторная диагностика анемий, 2001; Клиническое руководство … , 2003]. В этой реакции диазотированная сульфаниловая кислота реагирует с билирубином с образованием двух азопигментов - с красновато-фиолетовой окраской при нейтральном pH, и синей - при высоких значениях pH. Диазотирующий метод обеспечивает получение воспроизводимых и надежных результатов. В этой процедуре "акселераторами" служат водный раствор кофеина и бензойнокислого натрия.

Билирубин в сыворотке обычно определяют в виде общего и прямого билирубина (Билирубин конъюгированный, связанный; Bilirubin direct).

Путем вычитания прямого из общего количества определяют концентрацию непрямого билирубина (или неконъюгированного, или свободного билирубина).

При определении прямого билирубина реагирует с диазореактивом большая часть δ-билирубина и конъюгированного билирубина и небольшая часть неконъюгированного билирубина. Высокое значение рН ускоряет вступление в реакцию неконъюгированного билирубина при определении прямого билирубина; реактив для прямого билирубина должен содержать, по крайней мере, 50 ммоль/л HCI, чтобы предотвратить вступление в реакцию неконъюгированного билирубина.

Добавление в реакционную среду соединений, разрушающих водородные связи в молекуле билирубина (кофеина, метанола, этанола, мочевины или поверхностно активных соединений), необходимо для реакции неконъюгированного билирубина с диазотирующим реактивом.

С помощью реакции Ван-ден-Берга можно отличить прямой билирубин от непрямого. Если реакцию проводят в водной среде, с диазореактивом Эрлиха соединяется только растворимый прямой билирубин (положительная прямая реакция). При обработке метанолом происходит разрыв водородных связей в молекуле непрямого билирубина, и в реакцию вступают как прямой, так и непрямой билирубин, что позволяет определить их суммарную концентрацию, то есть общий билирубин. Уровень непрямого билирубина определяют так же, как разность между концентрациями общего и прямого билирубина. Однако результаты исследования зависят от времени, в течение которого ставится прямая реакция. Если оно превышает одну минуту, небольшая часть непрямого билирубина связывается с реактивом и уровень прямого билирубина оказывается завышенным. Поэтому реакцию Ван-ден-Берга можно использовать лишь для приблизительного определения уровня прямого и непрямого билирубина.

При гипербилирубинемии прямой билирубин накапливается в эластической ткани, глазном яблоке, мукозных мембранах и коже, что вызывает характерное желтушное окрашивание.

Оптимальным для исследования параметров, характеризующих метаболизм железа, пигментный обмен, а также других биохимические процессы, является выполнение его с использованием биохимического анализатора. Биохимический анализатор - прибор, использующий для клинических и химических исследований различные механические и компьютерные технологии. С их помощью возможно определение наличия и концентрации электролитов, ферментов, липидов, специфических белков, гормонов и пр. в практически любых видах биологического материала.

Заключение

Анемия стала насущной проблемой для большого числа людей по всему миру. Она поражает особенно уязвимые слои населения - детей младшего возраста, беременных женщин, пожилых людей и лиц, страдающих серьезными хроническими заболеваниями.

Анемии - группа заболеваний (или состояний), характеризующихся снижением содержания гемоглобина в единице объема крови, чаще при одновременном уменьшении количества эритроцитов. Наличие клинических симптомов анемии требует тщательного разностороннего лабораторного обследования.

Для диагностики анемий используются как рутинные лабораторные исследования, доступных к выполнению в условиях любой лаборатории, так и более трудоемкие методики.

Начальный этап диагностического поиска (определение гемоглобина, общего числа эритроцитов и изучение их морфологии) нацеливает на патогенетический вариант анемии, то есть основной механизм, который обусловил снижение уровня гемоглобина. Для выявления причины и дифференциальной диагностики требуются дополнительные исследования, важнейшими из которых являются биохимические методы.

Следующий этап диагностики и дифференциального диагноза - прерогатива лечащего врача.

По результатам проделанной работы сделаны следующие выводы:

1. Была изучена литература по теме: "Биохимические показатели при острых и хронических анемиях". Изложена классификация анемий, выделены причины развития тех или иных анемических состояний.

2. Лабораторные исследования являются непременным условием диагностики анемий и должны включать в себя, помимо изучения параметров гемограммы, дополнительные биохимические методы.

. Число определяемых показателей является очень важным критерием. Чем больше число определяемых показателей, тем больше диагностической информации получает врач и, следовательно, выше эффективность лечебно-диагностического процесса.

# 4. В части случаев определение патогенетического варианта анемии возможно на основании комплекса рутинных лабораторных исследований, доступных к выполнению в условиях любой лаборатории.

Библиографический список

1. Антонов В.С., Богомолова Н.В., Волков А.С. Автоматизация гематологического анализа. Интерпретация показателей гемограммы. Саратов, 2008.

. Аркадьева Г.В. Диагностика и лечение железодефицитных анемий. М., 1999. 59 с.

3. Афанасьев Ю.И.. Гистология, цитология и эмбриология. М., 2002. 744 с.

. Воробьев А.И. Руководство по гематологии: В 2 т. М., 1985.

. Воробъев П.А. Анемический синдром в клинической практике. М., 2001. 217 с.

. Внутренние болезни / под. ред. Г. И. Бурчинского. Киев, 2000. 656 с.

. Гемолитическая анемия. /Румянцева Ю.В. и др. Терапевтический архив. 2003, № 7. С.78 - 81.

. Глушен С.В. Цитология и гистология. Курс лекций. Минск, 2003. 232 с.

. Гольдберг Е.Д. Справочник по гематологии. М., 2000. 287 с.

. Городецкий В.В., Годулян О.В. Железодефицитные состояния и железодефицитная анемия: лечение и диагностика. М., 2004. С. 1 - 28.

. Гринфельд Е.С. Анемия у людей пожилого возраста / Рус. Мед. журнал. 2008, № 29. С. 1944 - 1949.

. Дворецкий Л.И. Гипохромные анемии / Гематология. 2001. Т.3. N9.

13. Дворецкий Л.И. Анемии: стратегия и тактика диагностического поиска. Справочник поликлинического врача, т.2. 2002, №6. С.65 - 78.

14. Дворецкий Л.И. Алгоритмы диагностики и лечения анемий / Рус. Мед. журнал. 2003, № 11 (8). С. 427 - 433.

15. Дворецкий Л.И. Железодефицитная анемия в практике терапевта / Рус. Мед. журнал. 2009, № 23. С. 1517 - 1522.

16. Дворецкий Л.И., Воробьев П.А. Дифференциальный диагноз и лечение при анемическом синдроме. М., 1994. 24 с.

. Ершова А.К. Этиология, патогенез и лечение железодефицитной анемии. Рус. Мед. журнал. 2011, № 12. С. 790 - 795.

18. Железодефицитная анемия беременных /Н.М. Подзолкова и др. Рус. Мед. Журнал. 2003; № 11(5). С. 326 - 331.

19. Клиническое руководство по лабораторным тестам / под ред. проф. Н Тица. М., 2003.

20. Копылов Ф.Ю., Щекочихин Д.Ю. Анемии при хронической сердечной недостаточности / Рус. Мед. журнал. 2011, № 7. С. 440-445.

. Коровина Н.А. Железодефицитные анемии у детей / Н.А. Коровина, А.Л. Заплатников, И.Н. Захарова. - М., 1998. 210 с.

. Лабораторная гематология / С.А. Луговская и др. М., 2006. 216 с.

23. Лабораторная диагностика анемий (пособие для врачей) / В.В.Долгов и др. Изд-во "Губернская медицина", 2001. 82 с.

24. Методики клинических лабораторных исследований в 3 т. / под ред. В.В. Меньшикова. Т. 1. М., 2008. 312 с.

25. Митерев Ю.Г. Воронина Л.Н. Железодефицитные анемии и состояния (диагностика, лечение, профилактика). Клиническая медицина. 1992. №7-8. С. 19 - 25.

26. Михайлова Е. Апластическая анемия / Врач. 2001, № 12. С. 18-21.

. Назаренко Г.И., Кишкун А.А. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований. М., 2002. 298 с.

. Постникова С.Л., Малышева Н.В., Касатова Т.Б. Клинические рекомендации по коррекции железодефицита у различных групп пациентов / Рус. Мед. журнал. 2010, № 30 (18). С. 1843-1848.

29. Птушкин В.В. Дискуссионные вопросы применения эритропоэтинов в лечении анемии у пациентов с опухолевыми заболеваниями / Онкогематология. 2007, № 2. С. 31-36.

. Российские Национальные Рекомендации по диагностике и лечению анемии при хронической болезни почек / Анемия. 2006, № 3. С. 3-18.

. Руководство по гематологии: В 3 т. Т.3/Под ред. А.И.Воробьева. М., 2005. 416 с.

. Румянцев А.Г., Тарасова И.С., Чернов В.М. Эпидемиологические аспекты анемий у детей и подростков / Анемия. Журнал Рабочей Группы по Анемии. 2006, № 1 - 2. С. 3 - 6.

. Садовникова И.И. Железодефицитная анемия: патогенез, диагностический алгоритм и лечение / Рус. Мед. журнал. 2010, № 9. С. 940 - 944.

. "Старые" и "новые" опухоли лимфатической системы / Воробьев А.И. и др. Терапевтический архив. 2001, № 7, С. 9 - 13.

35. Тайпурова А.М Серия: "Ex Libris". Журнал акушерства и женских болезней. М., 2008. 36 с.

. Хоффбранд В., Петтит Дж. Гематология. Атлас-справочник / пер.с англ. М., 2007. 408 с.

. Цветкова О.А. Медико-социальные аспекты железодефицитной анемии / Рус. Мед. журнал. 2009, № 5. С. 387-393.

38. Цветной атлас клеток системы крови. Один источник и четыре составные части миелопоэза. / И.М.Погорелов, Г.И. Козинец и др. М., 2007. 175 с.

39. Шиффман Ф.Д. Патофизиология крови / пер. с англ. М, 2007. 448 с.

. Шулутко Б. И., Макаренко С.В. Стандарты диагностики и лечения внутренних болезней. СПб., 2005. 584 с.

41. WHO/NHD. Iron Deficiency Anaemia. Assessment, Prevention and Control: A guide for programme managers, 2001. WHO/NHD. Iron Deficiency Anaemia. Assessment, Prevention and Control: A guide for programme managers, 2001.