

КОСТНОМОЗГОВОЕ КРОВЕТВОРЕНИЕ И ОЦЕНКА МИЕЛОГРАММЫ



И.А. Новикова



Костный мозг как орган кроветворения

Костный мозг становится единственным кроветворным органом человека, начиная с 20-й недели гестации.

Кроветворный (красный) костный мозг у взрослого расположен в губчатых костях скелета и в эпифизах трубчатых костей. Обильно васкуляризован. Сосудистая сеть образуется двумя источниками: центральной питательной артерией кости и множественными кортикальными артериями, пронизывающими наружную пластинку кости. Концевые капилляры этих двух сосудистых систем соединяются и образуют костномозговые синусы. **Кроветворение происходит на костномозговых балках вне сосудистых синусов.** Созревшие клетки проходят через стенку костномозговых синусов и проникают в кровоток. **Т.О. барьером между костным мозгом и циркуляцией является стенка костномозгового синуса.**



Стромальное

микроокружение

Строма костного мозга это выстилка костномозговых балок, на которой располагаются островки кроветворных клеток. Морфологически - **фибробласты, жировые клетки, макрофаги и эндотелиальные клетки.**

Роль стромальных клеток:

- ❖ Выработка ростовых факторов для кроветворных клеток
- ❖ Регуляция направления дифференцировки клеток за счет контактных взаимодействий.
- ❖ Обеспечение хоминг-эффекта
- ❖ Контроль эритропоэза (макрофаги), гранулоцитопоэза - фибробласты и



Пролиферативный пул костного мозга

Это молодые клетки костного мозга, способные к делению.

Кроветворение в костном мозге происходит островками, состоящими из клеток определенного вида. **Пролиферация и созревание клеток крови происходит параллельно.**

Пролиферация осуществляется митотическим путем (длительность митотического цикла в среднем 2 сут).

Созревание клетки происходит между митозами → синтез определенных белков, обладающих рецепторной или ферментативной активностью и определяющих ее уровень дифференцировки. По мере созревания замедляется синтез ДНК.



Созревание гранулоцитарного ростка

Пролиферативный пул: миелобласты, промиелоциты и часть миелоцитов (более крупные, материнские). Миелоциты являются «резервом пролиферативной мощности» (обладают способностью временного выхода из митотического цикла).

Непролиферативный пул: метамиелоциты, палочко- и сегментоядерные – созревают без деления. Длительность нахождения в КМ – 5-7 дней.

Зрелые гранулоциты КМ формируют «костномозговой гранулоцитарный резерв» - самый мощный и лабильный в организме. Их количество в 2—3 раза превышает число молодых клеток и почти в 30 раз — число циркулирующих.



Созревание эритроидного ростка

Пролиферативный пул: эритробласты, базо- и полихроматофильные нормобласты.

Непролиферативный пул: оксифильный нормобласт, ретикулоцит

Процесс регулируется Hb - чем больше Hb в цитоплазме клетки (синтез Hb начинается на стадии базофильного нормобласта), тем медленнее происходит синтез ДНК. При содержании гемоглобина 13,5 пг (стадия оксифильного нормобласта) синтез ДНК прекращается → ядро выталкивается из клетки → костномозговой ретикулоцит → выход в циркуляцию.



Механизмы эритропоэза

1. Нормобластический эритропоэз – 95% клеток эритроидного ростка
2. Мегалобластический эритропоэз (неэффективный эритропоэз) - ~5 % клеток эритроидного ростка. Нарушается синхронизм в синтезе Hb и ДНК → синтез ДНК происходит медленно, а накопление Hb быстро. Образуются мегалоциты - гигантские эритроциты с высоким содержанием Hb, не способные к делению и нормальному развитию → резко укорочена длительность жизни.

При дефиците витамина B12 и/или фолиевой кислоты удельный вес неэффективного эритропоэза резко увеличивается, красный росток становится мегалобластическим.



Созревание тромбоцитарного ростка

Тромбоциты — это частицы цитоплазмы гигантской костномозговой клетки — мегакариоцита. Мегакариоцит развивается по эндомитотическому пути, т. е. митоз ядра не сопровождается разделением цитоплазмы → образуются гигантские клетки с большим количеством ядер — в среднем 8-16.

Образование тромбоцитов из мегакариоцитов происходит внутри синусов при проникновении «псевдоподии» цитоплазмы мегакариоцита через эндотелиальную стенку → «отшнуровка» цитоплазмы.



Кинетика клеток крови

Созревание → выход внутрь костно-мозгового синуса через поры между клетками эндотелия (диаметр 1-1,2 мкм) → выталкивание в общий кровоток сокращением гладкомышечных стенок синусоидальных венул.

Продолжительность жизни в кровотоке:

Эритроциты 100 — 120 дней, разрушение в селезенке

Гранулоциты - от нескольких часов до 2—3 сут → выход в ткань → разрушение через 5-7 суток.

Моноциты - 20 часов → выход в ткань → трансформация в тканевые макрофаги



Ростовые факторы миелопоэза

Эритропоэз -эритропоэтин, выделяемый почечной тканью (выработка усиливается при гипоксии тканей).

Тромбоцитопоэз - тромбопоэтин.

Гранулоцитопоэз - регулируется колониестимулирующими факторами (Г-КСФ, ГМ-КСФ).



Миелограмма

Миелограмма — это процентное соотношение клеточных элементов костномозгового пунктата. Вычисляется после подсчета в окрашенных препаратах от 500 до 1000 клеток.

Цель исследования определить:

1. Состояние ростков кроветворения
2. Наличие признаков заболевания системы крови
3. Наличие необычных для костного мозга клеток или скоплений клеток



Преаналитический этап

Получение материала (врач)– пункция губчатой кости (грудины, подвздошной или пяточной кости) 2 порции:

1. Для подсчета миелокариоцитов (цитоза) и мегакариоцитов - в одноразовую микровету с ЭДТА (немедленно тщательно перемешивать для растворения антикоагулянта!).
2. Для микроскопии - мазки на 10 предметных стеклах непосредственно на месте пункции из другой порции полученного материала (делает лаборант)

N.B! Оптимально и достаточно для диагностических целей 0,3—0,5 мл пунктата, при этом разведение периферической кровью обычно не превышает 2,5 раза.



Основные этапы исследования ПКМ


I. Подсчет миелокариоцитов и мегакариоцитов

II. Подсчет миелограммы

- микроскопия препарата под малым увеличением (поиск оптимального участка для микроскопии)

- подсчет миелограммы с иммерсионным объективом

III. Описание миелограммы и выводы



Подсчет миелокариоцитов и мегакариоцитов

Количество миелокариоцитов (цитоз) - определяют в камере Горяева после разведения пунктата в 20 раз в 3—5% растворе уксусной кислоты или с помощью гематологического анализатора.

Количество мегакариоцитов подсчитывают в камере Фукса—Розенталя.

Норма - «пунктат нормоклеточный»:

Миелокариоциты - $80,0 - 180,0 \times 10^9$ л

Мегакариоциты – $0,054 - 0,074 \times 10^9$ л

N.B! О разведении кровью свидетельствуют значительное уменьшение количества мегакариоцитов в препаратах при нормальном количестве тромбоцитов в периферической крови, увеличение количества сегментоядерных нейтрофилов, моноцитов, лимфоцитов.



Микроскопия препарата

под малым увеличением

Мазки окрашивают обычным способом.

Цель микроскопии под малым увеличением (x100):

- поиск места для детального изучения клеток и подсчета миелограммы при большом увеличении (тонкая зона мазка с расположением эритроцитов в один слой отдельно друг от друга и большим количеством исследуемых клеток);
- поиск и ориентировочная оценка количества мегакариоцитов в пунктате;
- обнаружение метастазов злокачественных опухолей.



Подсчет миелограммы

Проводится дифференцированный подсчет **ядросодержащих** клеток (выражается в %):

Недифференцируемые бластные клетки ($\geq 30\%$ - острый лейкоз)

Миелоидный росток:

Подсчитывают отдельно сумму всех нейтрофильных элементов (миелобласты, нейтрофильные промиелоциты, миелоциты, метамиелоциты, п/я и с/я), сумму всех эозинофилов, базофилов.

Нейтрофильный росток в норме - 53—69% всех элементов пунктата. Гиперплазия - при ХМЛ. Снижение - агранулоцитоз, апластические состояния, острый лейкоз, бластный криз ХМЛ.



Подсчет миелограммы (продолжение)

Моноцитарный росток: подсчитывается сумма всех клеток (монобласты, промоноциты, моноциты).

Норма – 0,25-2%

Свыше 3% - хронические инфекции (тbc, сифилисе и др.), неходжкинские лимфомы, ЛГМ, МДС, ХМЛ.

Плазматические клетки: Увеличение до 10% - как реакция на воспаление, опухоль, аутоиммунный процесс. Количество ПК $\geq 30\%$ – ведущий морфологический критерий множественной миеломы.



Подсчет миелограммы (эритроидный росток)

Эритроидный росток:


Сумма клеток эритропоэза (эритробласты и нормобласты - базофильные, полихроматофильные и оксифильные).

Норма 14,5—26,5%.

Гиперплазия эритроидного ростка - гемолитические анемии, ХМЛ в хронической фазе, эритремии, реактивные эритроцитозы.

N.B! Если расширение эритроидного ростка приводит к увеличению продукции эритроцитов - **эффективный эритропоэз**.

Неэффективный эритропоэз - эритрокариоциты разрушаются в костном мозге, не созревая.



Подсчет миелограммы (эритроидный росток)

Гипоплазия эритроидного ростка
костного мозга - апластическая
анемия, поздние стадии хронических
лейкозов, острые лейкозы,
цитостатическая терапия.

Признаки дизэритропоэза - при МДС,
мегалобластном типе кроветворения:
макроцитоз, фрагментация ядер,
многоядерность, аномальный рисунок
ядерного хроматина и т.п.



Подсчет миелограммы (мегакариоцитарный росток)

Сумма клеток: мегакариобласты,
промегакариоциты, мегакариоциты.

Норма: 1 мегакариоцит на 20—25 полей зрения.

Цитологический анализ дает лишь ориентировочное количество мегакариоцитов (чрезвычайно неравномерное распределение в пунктате). Данные сопоставляют с количеством тромбоцитов в крови. **Описательная оценка:** количество мегакариоцитов в норме («мегакариоциты в умеренном количестве»), увеличено («мегакариоциты в большом количестве») или снижено («количество мегакариоцитов снижено», «встречаются единичные», «не обнаружены»).



Подсчет миелограммы

(мегакариоцитарный росток)

Увеличение количества мегакариоцитов - ХМЛ, эритремия, идиопатический миелофиброз, после кровотечений, травм, операций, при злокачественных опухолях, после спленэктомии, при хронических инфекционно-воспалительных процессах.

Уменьшение количества мегакариоцитов - ОЛ, апластические анемии, лучевая болезнь, терминальная стадия ХЛ.



Подсчет миелограммы (мегакариоцитарный росток)

Оценка функциональной активности мегакариоцитов - по наличию в цитоплазме формирующихся тромбоцитов и отделению (отшнуровке) от цитоплазмы готовых пластинок. В норме функционирует приблизительно 65— 75% мегакариоцитов.

Снижение функциональной активности мегакариоцитов - идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура, спленомегалия, алкоголизм, цирроз.

Морфологические нарушения мегакариоцитопоэза (дисмегакариоцитопоэз) - МДС, ХМЛ. Изменение форм и размеров клеток, продукция аномальных тромбоцитов (гигантские формы, гипо или гипергранулярные пластинки).



Расчетные показатели миелограммы

Индекс созревания нейтрофилов =
(промиелоциты+миелоциты+метамиелоциты)/(палочкоядерные+сегментоядерные нейтрофилы)

Норма = 0,6—0,8

Увеличение при богатом костном мозге - задержка созревания Нф, при бедном — истощение гранулоцитарного резерва.

Уменьшение на фоне богатого костного мозга - задержка элиминации гранулоцитов, при бедном—примесь периферической крови.



Расчетные показатели

миелограммы (продолжение)

Индекс созревания эритрокариоцитов
(индекс созревания нормобластов)
=(полихроматофильные нормобласты
+оксифильные нормобласты)/все
клетки красного ростка.

Норма =0,8-0,9

Полихроматофильные > оксифильные
> базофильные

Уменьшение индекса свидетельствует о
задержке гемоглобинизации и/или
превалировании молодых
базофильных форм.

Расчетные показатели

миелограммы (продолжение)

Лейко-эритробластическое отношение (отношение процентного содержания всех элементов лейкоцитарного ряда к процентному содержанию всех элементов эритроидного ряда).

Норма 2:1—4:1.

	Богатый КМ (более 150 тыс. в 1 мкл)	Бедный КМ (80 тыс. в 1 мкл)
Увеличение индекса	гиперплазия белого ростка	редукция красного ростка или примесь крови
Уменьшение индекса	гиперплазия красного ростка	редукция гранулоцитарного ростка



Описательная часть

миелограммы с выводами

Содержит сведения о наличии в пунктате дегенеративных изменений клеток, присутствии клеточных скоплений (например, плазматических или стромальных клеток), комплексов атипичных клеток злокачественной опухоли и др.

При обнаружении в КМ неидентифицируемых клеток дается их краткая морфологическая характеристика.



Постаналитический этап

исследования миелограммы

На основании полученных несомненных морфологических данных ставят *предполагаемый лабораторный диагноз.*

Бланк результата морфологического исследования ПКМ содержит следующие составные части: цифровая, описательная с выводами по росткам кроветворения и предполагаемый лабораторный диагноз.

Бланк результата подписывает врач, проводивший исследование и заведующий клинико-диагностической лабораторией.

Окрашенные мазки маркируют (N препарата, ФИО пациента, N истории болезни, отделение, дата исследования) и хранят в архиве.



БЛАГОДАРЮ
ЗА ВНИМАНИЕ !!!