

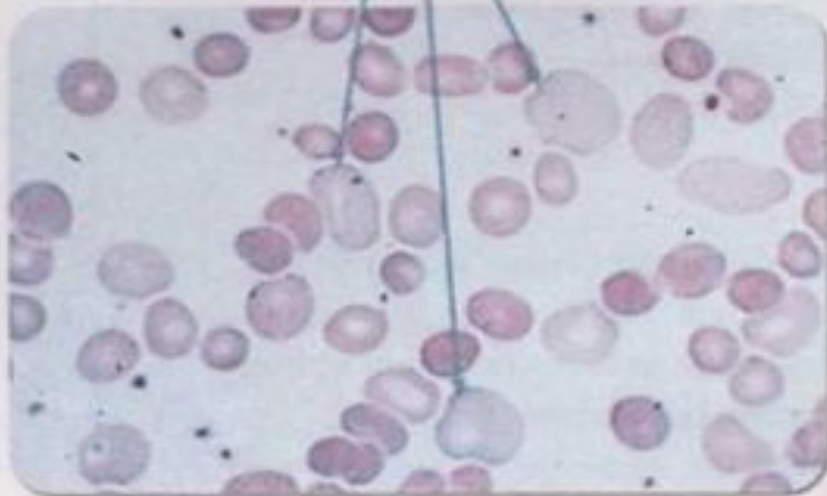
РЕТИКУЛОЦИТЫ

- Ретикулоциты образуются из последнего ядерного предшественника эритроцитов – метарубрицита
- Имеют больший размер по сравнению с эритроцитами
- Содержат на 20-30% меньше гемоглобина (он продолжает синтезироваться во время созревания)
- Цитоплазма имеет меньший объем, а поверхность клетки – больший (за счет инвагинаций цитоплазмы)
- Под действием ферментов клетки клеточные органеллы деградируются
- Созревают в эритроциты в течение 3-4 сут

РЕТИКУЛОЦИТЫ

- В ответ на анемию продукция эритроцитов в костном мозге может возрастать в 8-10 раз
- Выявление ретикулоцитов (красители – кризильный синий блестящий, новый метиленовый синий) основано на применении красок, вызывающих преципитацию рибосомальной РНК и органелл
- Преципитаты визуализируются как агрегаты синего материала (агрегатные ретикулоциты) или 2-3 маленькие пунктатные структуры (пунктатные ретикулоциты)
- Окраска по Романовскому не способствует преципитации; РНК и митохондрии клеток окрашиваются в светло-голубой оттенок – полихроматофилы (соответствует агрегатным ретикулоцитам)

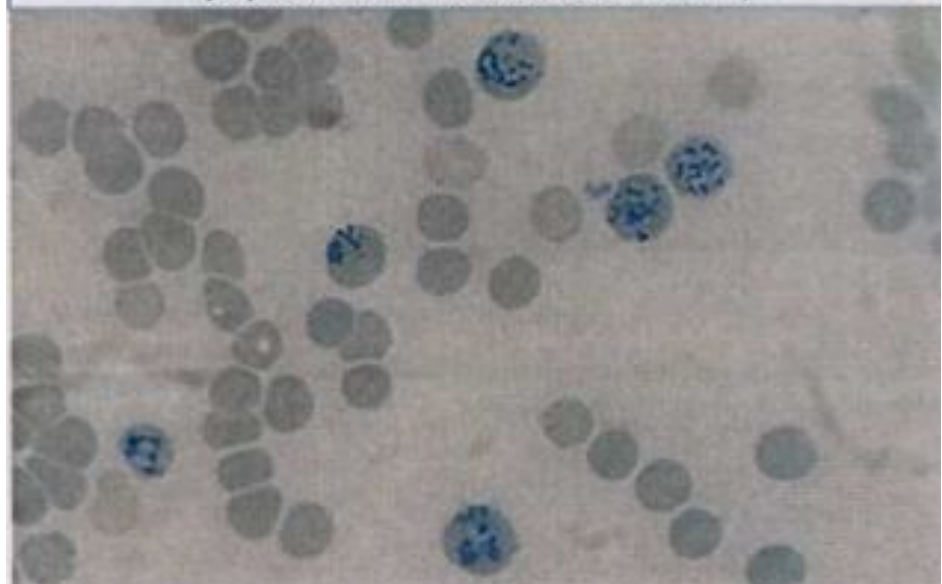
Полихроматофилы



Полихроматофилы:

- Эритроциты большего размер по сравнению с обычными эритроцитами
- Не имеют форму двояковогнутого диска
- Цвет светло-голубой за счет 20-30% меньшего содержания гемоглобина

Агрегатные ретикулоциты собак
(окраска новым метиленовым синим)



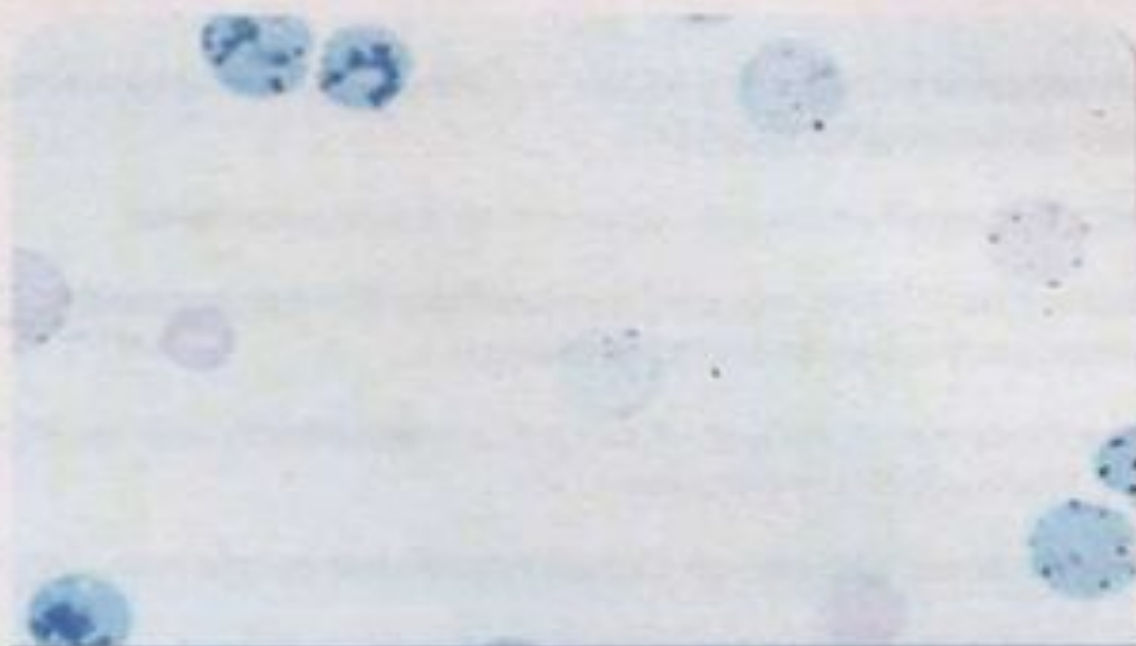
СОБАКИ

- *Количество ретикулоцитов в норме и при анемии у собак и кошек сильно различается*
- У собак в норме агрегатные ретикулоциты выделяются из костного мозга в небольшом количестве – менее 1%
- Полное созревание ретикулоцитов отмечается в течение 24 ч
- Пунктатные ретикулоциты являются коротко живущими и в норме у собак не встречаются в значимых количествах
- При оценке регенераторного ответа учитывают только агрегатные ретикулоциты

КОШКИ

- У кошек в норме агрегатные ретикулоциты выделяются из костного мозга в небольшом количестве – менее 0,4%
- Количество полихроматофильных клеток в связи с этим у кошек ниже, чем у собак
- У агрегатных ретикулоцитов кошек короткое время жизни 12 ч, после чего они становятся пунктатными
- Быстрое созревание агрегатных ретикулоцитов маскирует интенсивность регенераторного ответа
- Пунктатные ретикулоциты являются длительно живущими (циркулируют 10-12 сут) и в норме у кошек встречаются в значимых количествах, составляя до 10% от всех эритроцитов

РЕТИКУЛОЦИТЫ



Выраженный регенераторный ответ у кошки
(3 агрегатных ретикулоцита и множество пунктатных
форм) при окраске новым метиленовым синим

ОЦЕНКА РЕГЕНЕРАЦИИ

Методы оценки регенераторного ответа:

- автоматизированный подсчет
- ручной подсчет

Показатели:

- ретикулоциты (автоматизированный и ручной)
- морфология эритроцитов/полихроматофилы (ручной)
- ядерные эритроциты (автоматизированный и ручной)
- индексы эритроцитов (автоматизированный)

ОЦЕНКА РЕГЕНЕРАЦИИ

Оценка на основании ручного подсчета ретикулоцитов в мазке, окрашенном по специальным методикам:

- Агрегатные ретикулоциты (подсчитываются у собак и кошек) содержат хорошо визуализируемые агрегаты в виде нитей или клубков:
 - норма для собак: 1%
 - норма для кошек: 0 – 0,5%
- Пунктатные ретикулоциты (подсчитываются у кошек) представлены эритроцитами с мелкими точками:
 - норма для кошек: 1 – 10%

ОЦЕНКА РЕГЕНЕРАЦИИ

- Приготовленные мазки микроскопируют с иммерсионным объективом
- Подсчитывают не менее 1000 эритроцитов и отмечают среди них количество ретикулоцитов, результат выражают в ‰
- Подсчет содержания ретикулоцитов в процентах производится по формуле:

$$\text{Ret}\% = A/B \times 100\%$$

- где: Ret% — содержание ретикулоцитов в %, A — количество ретикулоцитов, выраженное в ‰, B — количество подсчитанных эритроцитов (1000)

ОЦЕНКА РЕГЕНЕРАЦИИ

- Оценка степени выраженности регенераторного ответа на основании ручного подсчета ретикулоцитов в мазке крови:

Выраженность регенераторного ответа	Собака	Кошка	
	% агрегатных ретикулоцитов	% агрегатных ретикулоцитов	% пунктатных ретикулоцитов
Отсутствует	1	0 – 0,4	1 – 10
Слабый	1 – 4	0,5 – 2	10 – 20
Умеренный	5 – 20	3 – 4	20 – 50
Выраженный	21 – 50	более 5	более 50

ОЦЕНКА РЕГЕНЕРАЦИИ

Показатель абсолютного количества ретикулоцитов:

- определяет количество ретикулоцитов в 1 литре (или мкл) крови
- является более аккуратным для оценки регенераторного ответа при колебаниях количества эритроцитов у животного
- Расчет производится по формуле:

$$Ret_{\text{абс}} = Ret\% \times RBC / 100\%$$

- где RET% — содержание ретикулоцитов в %, RBC — количество эритроцитов, выраженное в $10^{12}/л$
- Норма у собак: до $60 \times 10^9/л$ или 60 000/мкл
- Норма у кошек: агрегатные до 15 000/мкл
пунктатные до 200 000/мкл

ОЦЕНКА РЕГЕНЕРАЦИИ

Оценка степени выраженности регенераторного ответа на основании абсолютного количества ретикулоцитов:

Выраженность регенераторного ответа	Собака	Кошка	
	агрегатных ретикулоцитов	агрегатных ретикулоцитов	пунктатных ретикулоцитов
Отсутствует	60	15	200
Слабый	150	50	500
Умеренный	300	100	1000
Выраженный	более 500	более 200	более 1500

* количество $\times 10^9/\text{л}$ или $10^6/\text{мкл}$

ОЦЕНКА РЕГЕНЕРАЦИИ

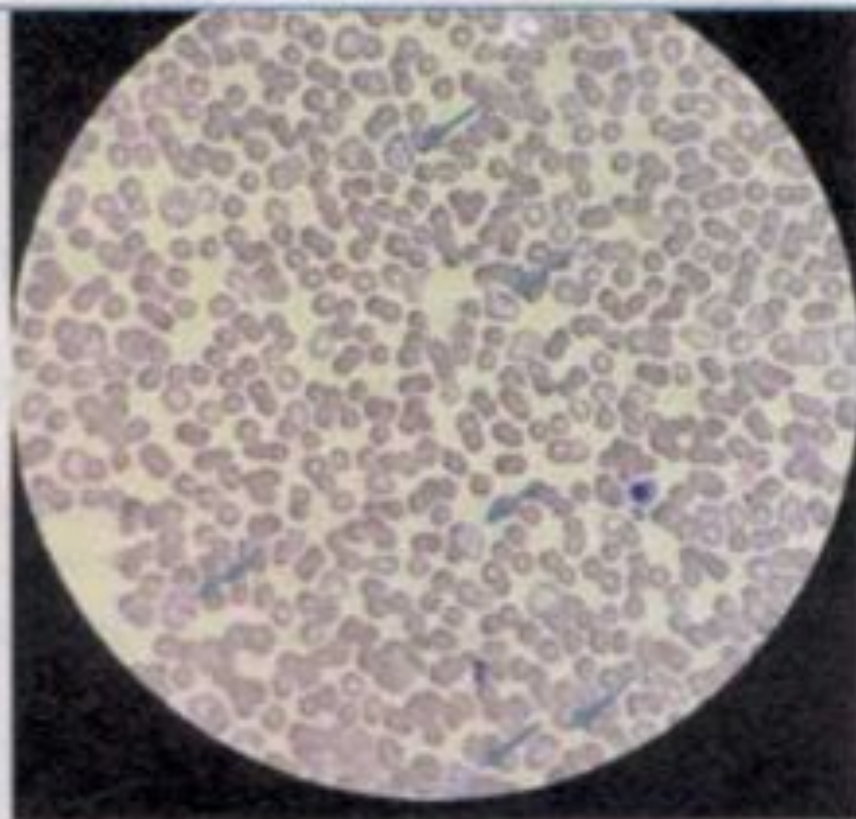
Оценка на основании полихромазии (ручной метод):

- При окраске по Романовскому агрегатные ретикулоциты имеют более крупный размер и светло-голубой цвет
- У собак количество полихроматофильных эритроцитов коррелирует с количеством ретикулоцитов, у кошек – только с агрегатными формами

Выраженность регенераторного ответа	Собака, % полихроматофилов на 100 эритроцитов	Кошка, % полихроматофилов на 100 эритроцитов
Отсутствует	1	0 – 0,4
Слабый	1 – 4	0,5 – 2
Умеренный	5 – 20	3 – 4
Выраженный	21 – 50	более 5

ОЦЕНКА РЕГЕНЕРАЦИИ

Слабый регенераторный ответ у собаки

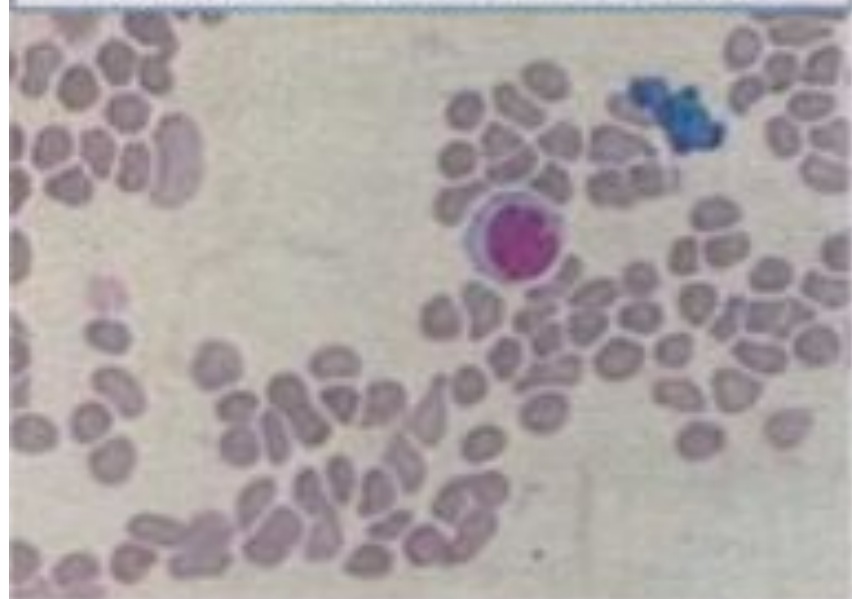


ОЦЕНКА РЕГЕНЕРАЦИИ

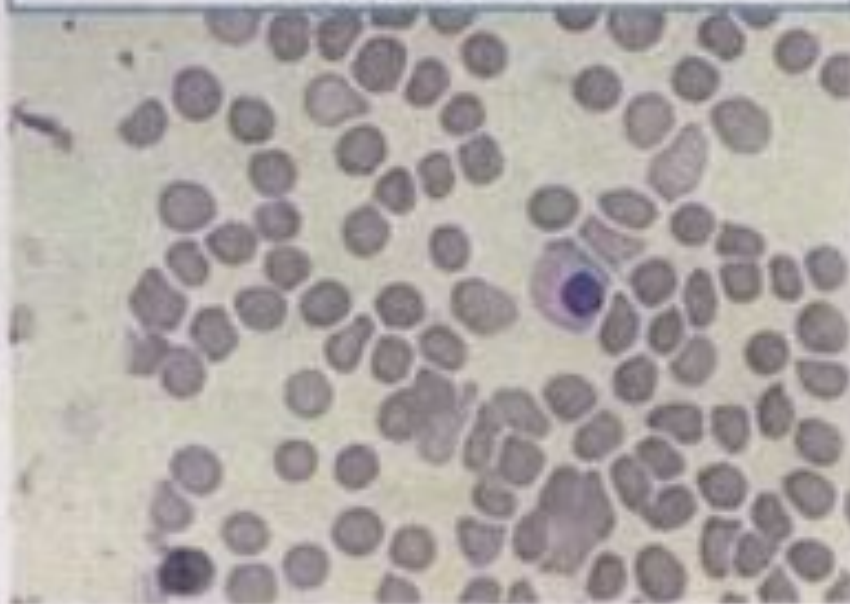
Ядерные эритроциты (nRBC):

- Метарубрициты, базофильные и полихроматофильные рубрициты
- Часто наличие nRBC отмечается при регенеративных анемиях
- *Метарубрициты* – клетки немного больше эритроцитов, с цитоплазмой от полихроматофильных (сине-красных) до красных оттенков; ядра темные, пикнотичные
- *Полихроматофильные рубрициты* – крупнее метарубрицитов, с полихроматофильной цитоплазмой и округлыми ядрами с глыбчатым хроматином
- *Базофильные рубрициты* – крупнее полихроматофильного, с узкой базофильной (синей) цитоплазмой и среднего размера округлым ядром с глыбчатым хроматином

Полихроматофильный рубрицит



Метарубрицит



ОЦЕНКА РЕГЕНЕРАЦИИ

Ядерные эритроциты могут появляться в отсутствие регенераторной анемии – при заболеваниях селезенки и костного мозга:

- у собак и кошек в небольшом количестве после спленэктомии, при опухолях селезенки (гемангиосаркома и гемофагоцитарная гистиоцитарная саркома)
- при заболеваниях костного мозга:
миелодиспластическом синдроме, метастазах опухолей в костном мозге, миелофиброзе (сопровождаются нерегенераторной анемией)
- у кошек при липидозе печени, заболеваниях ВДП
- при отравлении свинцом (без анемии)



ОЦЕНКА РЕГЕНЕРАЦИИ

Эритроциты с тельцами Жолли (Хауэлла-Жолли):

- Остатки ядерного материала, не выделившиеся клеткой после того, как она покинула костный мозг
- Округлой формы, синих оттенков
- В норме тельца Жолли удаляются в селезенке
- У кошек небольшое количество телец Жолли присутствует в норме в связи с особенностями строения селезенки
- Повышение количества телец отмечается при регенераторных анемиях, а также при гипофункции селезенки, после спленэктомии
- У миниатюрных и той-пуделей в отсутствие анемии могут увеличиваться в количестве при наследственном макроцитозе

Окраска на ретикулоциты

- Растворяют 0,5 г нового метиленового синего и 1,6 г оксалата калия в 100 мл дистиллированной воды. После фильтрования раствора равные объемы крови и краски смешивают

Окраска новым метиленовым синим по методу «влажного препарата» («Wet Mounts»)

- Сухой, нефиксированный мазок крови окрашивают, помещая каплю красителя между предметным и покровным стеклами. Приготовленный препарат недолговечен, зрелые эритроциты и гранулы эозинофилов не окрашиваются. Окраска не выявляет зернистые ретикулоциты, однако агрегатные ретикулоциты выглядят как тени эритроцитов, содержащие гранулярный материал, цвет которого варьирует от синего до пурпурного.
- Такой же цвет имеют тромбоциты, а тельца Хейнца видны как преломляющие включения внутри теней эритро

