

УДК 612.119

DOI: 10.18413/2409-0298-2016-2-2-34-40

**Клочкова Г.Н.
Беляева С.С.
Тикунова Т.С.**

ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СИСТЕМЫ КРОВИ БОЛЬНЫХ ЛЕЙКОЗОМ

- 1) заведующая клинико-диагностической лабораторией, кандидат биологических наук
Белгородская областная клиническая больница Святителя Иоасафа, ул. Некрасова, 8/9, г. Белгород, 308007, Россия
- 2) заведующая гематологическим отделением, кандидат медицинских наук. Белгородская областная клиническая больница Святителя Иоасафа, ул. Некрасова, 8/9, г. Белгород, 308007, Россия. *E-mail: S-belyaeva@yandex.ru*
- 3) заместитель главного врача по организационно-методической работе, кандидат медицинских наук
Белгородская областная клиническая больница Святителя Иоасафа, ул. Некрасова, 8/9, г. Белгород, 308007, Россия
E-mail: tikunovats@bokb.ru

Аннотация

В проведенном исследовании изучены гематологические показатели системы крови больных лейкозом. Установлено, что развитие острых форм лейкоза сопровождается лейкопенией со сдвигом в лейкоформуле в сторону увеличения числа моноцитов и базофилов на фоне снижения эозинофилов и нейтрофилов. Острый миелобластный лейкоз характеризуется моноцентрическим типом митоза, фрагментацией и рассеиванием хромосом в цитоплазме. Со стороны красной крови наблюдали развитие незначительной тканевой гипоксии. Полученные кривые Прайс-Джонса в обследуемых группах больных патологичны и характеризуются неправильной плоской формой с широким основанием, одновершинные, сдвинуты вправо, в сторону больших диаметров. Выявленные изменения в параметрах системы крови являются ключевым звеном гемореологических изменений, сопровождающих течение болезни.

Ключевые слова: острый лимфобластный лейкоз; острый миелобластный лейкоз; клетки крови; лейкоформула; кривые Прайс-Джонса.

**Klochkova G.N.
Belyaeva S.S.
Tikunova T.S.**

HAEMATOLOGICAL PARAMETERS OF BLOOD SYSTEM IN THE PATIENTS WITH LEUCOSIS

- 1) PhD in Biology, Head of Clinical Diagnostic Laboratory
Belgorod St. Ioasaph Regional Clinical Hospital. 8/9 Nekrasova St., Belgorod, 308007, Russia
- 2) PhD in Medicine, Head of Haematological Department. Belgorod St. Ioasaph Regional Clinical Hospital
8/9 Nekrasova St., Belgorod, 308007, Russia. *E-mail: S-belyaeva@yandex.ru*
- 3) PhD in Medicine, Deputy Chief of the Organizational and Methodical Work. Belgorod St. Ioasaph Regional
Clinical Hospital. 8/9 Nekrasova St., Belgorod, 308007, Russia. *E-mail: tikunovats@bokb.ru*

Abstract

In the current study the hematological parameters of the blood system in the patients with leucosis were studied. It was established that development of the acute forms of leucosis was accompanied by leucopenia with the shift in the leukoformula to the side of the increase in the number of monocytes and basophiles against decrease of the eosinophiles and neutrophiles. Acute myeloblast leucosis is characterized by monocentric type of mitosis with fragmentation and dispersion of chromosomes in the cytoplasm. In the red blood system was observed the development of the slight tissue hypoxia. The obtained curves of the Price-Jones in the studied groups of patients were pathologic and characterized by the irregular flat shape with wide base, unimodal, shifted to the right towards the large diameters. Reveled changes in the parameters of the blood system are a key element in the hemorheological changes accompanying course of the disease.

Key words: acute lymphoblast leucosis; acute myeloblast leucosis; blood cells; leukoformula; curves of Price-Jones.

Развитие лейкоза сопровождается накоплением в костном мозге и периферической крови клеточных субпопуляций с измененными молекулярными механизмами передачи внутриклеточного сигнала [6, 7, 8]. Опухолевая трансформация клеток крови сопровождается изменением их морфологии и функции. В частности, в литературе описаны данные о морфогенезе опухолей и предраковых состояний на основе исследования жизненного цикла клеток и кинетики клеточных популяций. Выявлены многочисленные патологии митозов на стадии метафазы, что является ключевым механизмом нарастания генетической гетерогенности клеток крови на различных этапах бластомогенеза [3]. Однако, несмотря на широкую изученность различных аспектов лейкоза крови, в доступной нам литературе не обнаружены данные о морфометрических параметрах бластных форм, сдвигах лейкоформулы, особенностях дыхательной функции системы крови.

Цель работы – изучить гематологические показатели системы крови больных хроническим миело- и лимфобластным лейкозом.

Материалы и методы исследования

В экспериментальной части работы использовали периферическую кровь 20 больных острым миелобластным (ОМЛ) и острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ) (по 10 человек в каждой группе). В обследуемую группу входили мужчины и женщины в возрасте 35-45 лет в период ремиссии болезни, после химиотерапии. Полученные результаты сравнивали с группой практически здоровых лиц в возрасте 30-40 лет (20 человек).

Исследовали морфофункциональный профиль периферической крови. Подсчет числа форменных элементов крови, лейкоформулы, определение концентрации гемоглобина, показателя гематокрита и расчет индексов красной крови производили на геманализаторе Beckman Coulter LH500 (Франция, 2010). Морфометрические параметры эритроцитов измеряли на мазках с использованием комплекса аппаратно-программной визуализации морфологических препаратов, анализа и регистрации оптических и морфологических показателей «ВидеоТест» (СПб, регистрационное удостоверение №2912001070216102-04 от

16.02.2004). Используя программу «ВидеоТест-МастерМорфология», производили видеозахват изображений, на которых определяли геометрические характеристики эритроцитов, измеряя средний габаритный размер 1000 клеток с каждого мазка.

Средний объем эритроцитов рассчитывали по Велькеру из соотношения между гематокритом и количеством эритроцитов в единице объема крови по формуле:

$$V = \frac{Ht}{RBC}, \quad (1)$$

где Ht – гематокрит (объемная масса эритроцитов в 1 мм³ крови);

RBC – число эритроцитов в 1 мм³ крови.

Среднюю толщину эритроцитов вычисляли по формуле Бороса, приняв при этом геометрию эритроцита за цилиндрическое тело:

$$T = \frac{V}{\pi R^2}, \quad (2)$$

где V – объем, мкм³;

R – средний радиус эритроцита, мкм

Площадь поверхности эритроцитов рассчитывали по формуле А. Хуртадо:

$$S = \frac{2V}{T} + 2\pi TR, \quad (3)$$

где V – объем, мкм³;

T – толщина, мкм;

R – средний радиус эритроцита, мкм.

Полученные результаты обрабатывали методами вариационной статистики. Достоверность различий определяли с использованием t критерия Стьюдента при p<0,05.

Результаты исследования и их обсуждение

В группах больных острыми лимфо- и миелобластными типами лейкоза установлена лейкопения. Достоверные различия установлены для группы больных ОМЛ – общее число лейкоцитов снижено на 61,5% (p<0,05) по сравнению с контролем. Кроме того, для них было характерно увеличение числа моноцитов и базофилов соответственно на 41,5% и 74,7% (p<0,05), на фоне сниженного числа нейтрофилов, эозинофилов и лимфоцитов (табл. 1).

Таблица 1

Лейкоформула больных лейкозом

Table 1

Leukoformula of patients with leucosis

Показатели	Контроль (здоровые) (n=20)	ОЛЛ (n=10)	ОМЛ (n=10)
WBC, 10^9 л^{-1}	9,51±0,27	7,79±1,63	3,66±0,73*
Нейтрофилы, %	55,48±1,27	34,17±1,35*	36,36±1,16*
Эозинофилы, %	1,84±0,42	5,36±1,74	0,57±0,02*
Базофилы, %	0,85±0,01	1,88±0,77	3,36±1,73
Лимфоциты, %	34,35±1,82	35,56±1,32	29,71±1,9
Моноциты, %	8,42±1,22	9,97±0,37	11,92±0,54*

Примечания: WBC – число лейкоцитов; ОЛЛ – острый лимфобластный лейкоз, ОМЛ – острый миелобластный лейкоз.
* статистически достоверные различия значений по сравнению с контролем при $p < 0,05$.

В крови одного из обследованных пациентов с острым миелобластным типом лейкоза зафиксирован «лейкемический провал», для которого было характерно отсутствие созревающих форм между бластными и зрелыми клетками. В крови этого больного бласты составляли 95% и 5% клеточных форм - зрелые клетки, вероятно оставшиеся как продукция сохраненных очагов нормального кроветворения. По данным литературы острый миелобластный лейкоз сопровождается полным отсутствием нейтрофилов и замещением их предшественниками – миелобластами, которые не способны к фагоцитозу [1].

В группе больных ОЛЛ число нейтрофилов было снижено на 38% ($p < 0,05$) по сравнению с донорами. По другим типам форменных элементов крови достоверных сдвигов в лейкоформуле не обнаружено.

При микроскопировании мазков больных ОЛЛ обнаружен клеточный полиморфизм, проявляющийся в большом разнообразии бластных форм с гипер- и гипохромией ядер. Форма ядра и цитоплазмы бластных клеток претерпевает скачкообразные или постепенные изменения от круглой к неправильной и большей по площади (рис. 1).

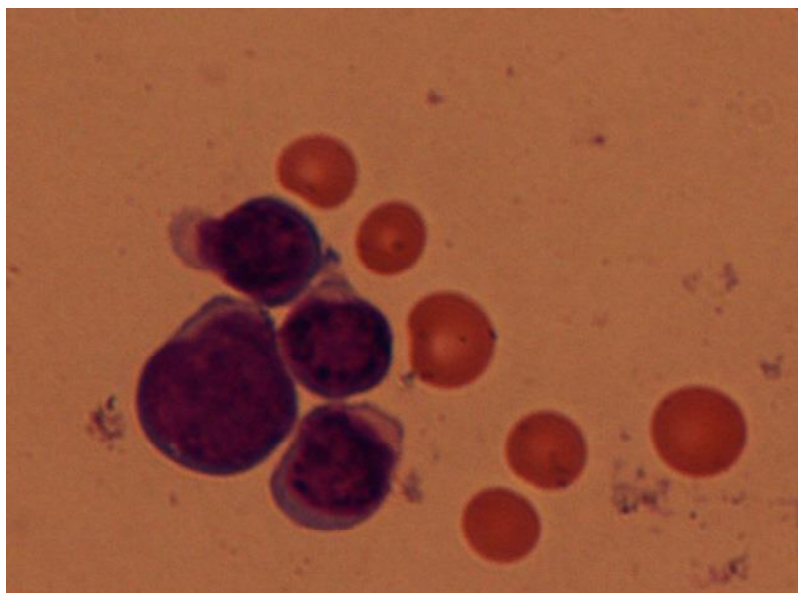


Рис. 1. Полиморфизм бластных форм в периферической крови в группе больных ОЛЛ

Fig. 1. Polymorphism of blast forms in the peripheral blood in the group of patients with ALL

В бластных формах выявлены патологии митоза в виде полой метафазы, которая представлена хромосомами, собранными в

метафазные пластинки по периферии веретена (рис. 2).

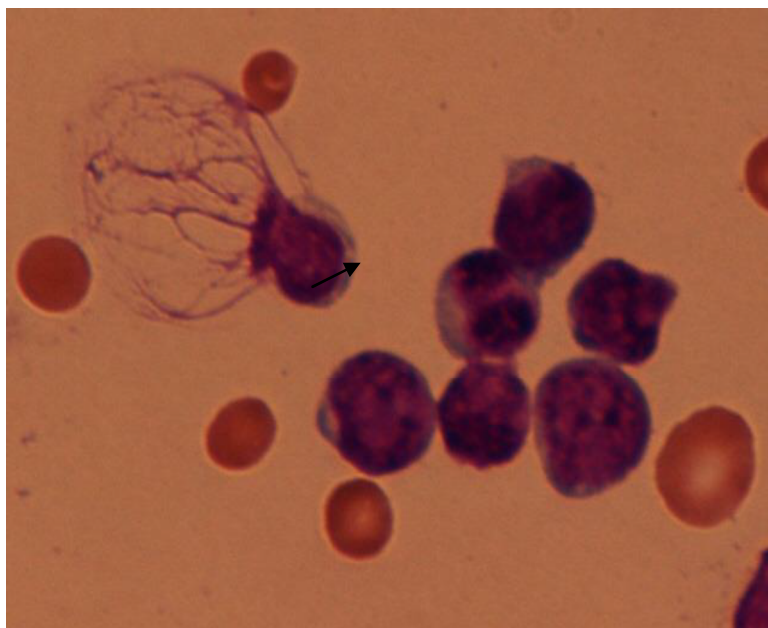


Рис. 2. Патология митоза - полая метафаза

Fig. 2. Pathology of mitosis – hollow metaphase

Возможной причиной возникновения полой метафазы является повреждение или набухание нитей веретена невыясненной природы.

При развитии миелобластного лейкоза в крови обнаружены картины моноцентрического

митоза, который связан с нарушением деления центриолей. При этом образуется только один полюс с веретеном и большой чашеобразной метафазной пластинкой (рис. 3).

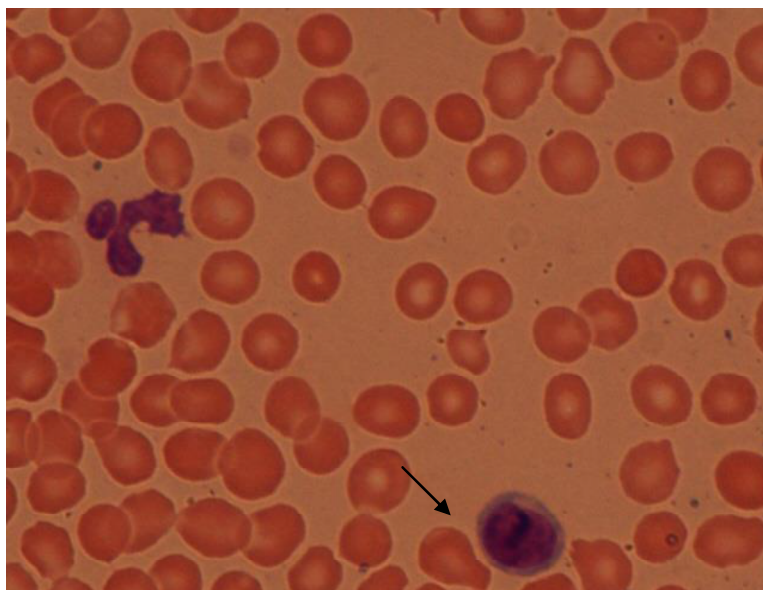


Рис. 3. Моноцентрический тип митоза у больного острым миелобластным лейкозом

Fig 3. Monocentric type of mitosis in the patients with acute myeloblast leucosis

Возникновение картин патологического митоза ведет к накоплению хромосомных мутаций и является одним из механизмов возникновения анеуплоидии и нарастания генетической гетерогенности клеточных популяций.

Анализируя гематологические показатели системы крови установлено снижение числа тромбоцитов как в группе больных ОЛЛ (на 42%;

$p < 0,05$), так и у больных ОМЛ (на 28%; $p < 0,05$). В группе больных ОЛЛ обнаружено снижение концентрации гемоглобина и показателя гематокрита на 15,6% и 16% ($p < 0,05$) соответственно по сравнению с контролем. Достоверных различий в индексах красной крови между исследуемыми группами не обнаружено (табл. 2).

Таблица 2

Гематологические показатели системы крови больных лейкозом

Table 2

Hematological indicators of blood system in the patients with leucosis

Показатели	Контроль (здоровые) (n=20)	ОЛЛ (n=10)	ОМЛ (n=10)
RBC, 10^{12} л^{-1}	3,74±0,08	3,32±0,21	3,81±0,17
Hb, г/л	121,25±3,180	102,37±1,47*	117,2±1,80
Ht, %	35,87±0,96	30,1±1,65*	34,74±1,8
MCV, фл	95,717±0,89	91,6±2,65	91,08±2,09
MCH, пг	32,365±0,31	31,65±0,92	30,7±0,73
MCHC, г/л	339,95±1,73	346,17±7,81	337,0±1,92
PLT 10^9 л^{-1}	320,18±1,52	185,13±0,6*	229,4±2,83*
MPV, фл	9,24±0,3	7,08±0,53	10,33±0,57

Примечания: RBC – число эритроцитов, Hb – гемоглобин, Ht – гематокрит, MCV – средний объем эритроцита, MCH – среднее содержание гемоглобина в эритроците, MCHC – средняя концентрация гемоглобина в эритроците, PLT – количество тромбоцитов, MPV – средний объем тромбоцитов.

* статистически достоверные различия значений по сравнению с контролем при $p < 0,05$.

Развитие лимфобластного лейкоза сопровождалось тромбоцитопенией, снижением концентрации гемоглобина и показателя гематокрита, однако число эритроцитов соответствовало значениям в контроле. В группе больных ОМЛ установлена тромбоцитопения.

Динамика размеров эритроцитов является показателем лабильности системы крови. В условиях развития лейкозных процессов доля

молодых эритроидных форм ничтожно мала [1]. В проведенных исследованиях выявлены изменения геометрических характеристик эритроцитов у больных лейкозом. Установлено увеличение диаметра и высоты эритроцитов у больных ОЛЛ соответственно на 16% и 20% ($p < 0,05$), а в группе больных ОМЛ – на 20% и 18,5% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем (табл. 3)

Таблица 3

Морфометрические параметры эритроидного звена больных лейкозом

Table 3

Morphometric parameters of the erythroid elements of the patients with leucosis

Морфометрические параметры	Контроль (доноры) (n=20)	ОЛЛ (n=10)	ОМЛ (n=10)
Диаметр эритроцита, мкм	5,89 ± 0,28	6,85 ± 0,07*	7,36 ± 0,07*
Высота эритроцита, мкм	0,44 ± 0,002	0,55 ± 0,02*	0,54 ± 0,02*
Объем, мкм ³	44,17 ± 1,9	49,48 ± 2,11	60,90 ± 2,31*
Площадь поверхности, мкм ²	211,70 ± 1,81	205,97 ± 0,93	263,63 ± 1,52*

Примечания: * статистически достоверные различия значений по сравнению с контролем при $p < 0,05$.

У больных ОМЛ установлено увеличение объема и площади поверхности эритроцитов соответственно на 27,5% и 80,3% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем (см. табл. 3).

Полученные кривые Прайс-Джонса в обследуемых группах больных патологичны и характеризуются неправильной плоской формой с широким основанием, одновершинные, сдвинуты вправо, в сторону больших диаметров (рис. 4).

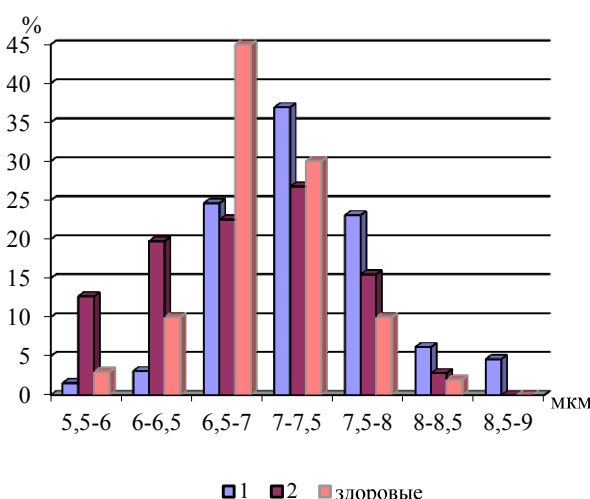


Рис. 4. Кривые Прайс-Джонса больных лейкозом: 1 – больные ОМЛ, 2 – больные ОЛЛ

Fig. 4. Curves of the Price-Jones of the patients with leucosis: 1 – patients with AML, 2 – patients with ALL

Появление в кровотоке эритроцитов с увеличенными размерами свидетельствует о циркуляции функционально «старых» клеточных форм. Согласно данным литературы, «старые» эритроциты становятся сферичными, что ведет к снижению их эластичности и утрате ряда физиологических свойств [5]. Сферуляция эритроцитов изменяет реологические свойства крови и нарушает гемодинамику [4].

По данным литературы неограниченная пролиферация опухолевых клеток-предшественниц протекает на фоне сниженного количества эритропоэтина в макрофагах эритробластических островков. Ученые полагают, что при развитии клонов лейкозных клеток нарушается комплементарность межклеточных взаимодействий макрофагов костного мозга с эритроидными клетками [2].

Заключение

Таким образом, для больных лейкозом установлена лейкопения. В лейкоформуле отмечен дегенеративный сдвиг влево с увеличением числа моноцитов и базофилов на фоне снижения эозинофилов и нейтрофилов. В результате проведенных морфологических исследований в периферической крови больных ОЛЛ установлено наличие гипо- и гиперхромно окрашенных форм ядер бластов с формой от округлой до неправильной, обнаружена патология митоза в форме полой метафазы. Острый миелобластный лейкоз характеризуется

моноцентрическим типом митоза, фрагментацией и рассеиванием хромосом в цитоплазме.

Со стороны красной крови отмечалась незначительная тканевая гипоксия. Развитие лимфо- и миелобластного типов лейкоза сопровождалось тромбоцитопенией, снижением концентрации гемоглобина и показателя гематокрита при числе эритроцитов соответствующим норме доноров, что связано с подавлением нормального кроветворения лейкоэмическими клонами. Выявленная гипоксическая реакция системы крови, сопровождающая развитие лейкозов, связана со снижением объемной массы эритроцитов (показатель гематокрита) и уменьшением средней концентрации гемоглобина в эритроците. Полученные кривые Прайс-Джонса в обследуемых группах больных патологичны и характеризуются неправильной плоской формой с широким основанием, одновершинные, сдвинуты вправо, в сторону больших диаметров.

Список литературы

1. Ермолин А.Э. Дифференциальная диагностика и лечение острых и хронических лейкозов. М.: Медицина. 2008. 200 с.
2. Захаров Ю.М., Рассохин А.Г. Эритробластический островок. М.: Медицина, 2002. 280 с.
3. Казанцева И.А. Патология митозов в опухолях человека. Новосибирск: Наука, 1981. 144 с.
4. Maeda N. Erythrocyte rheology in microcirculation // Jap. J. Physiol. 1996. V. 46 (1). Pз. 1-14.

5. Mongin A.A., Orlov S.N. Mechanisms of cell volume regulation and possible nature of cell volume sensor // *Pathophysiology*. 2001. Pp. 77-88.

6. Quere R., Andradottir S., Brun A.C.M., Zubarev R.A., Karlsson G., Olson K. High levels of the adhesion molecule CD44 on leukemic cells generate acute myeloid leukemia relapse after withdraw of the initial transforming event // *Leukemia*. 2011. V.5. Pp. 515-526.

7. Samanta A., Perarrona B., Chakraborty S., Sun X., Modi H., Bhaita R., Priebe W., Arlinghous J. Kinase 2 regulates Bcr-Abl signaling in chronic myeloid leukemia // *Leukemia*. 2011. V. 256. Pp. 463-472.

8. Schafranek L., Nievergall E., Powell J.A., Hiwasa D.K. Sustained inhibition of STAT 5, but not JAK 2, is essential for TKI-induced cell death in chronix myeloid leukemia // *Leukemia*. 2015. V. 29. Pp. 76-85.

References

1. Ermolin A.E. Differential diagnostic and treatment of acute and chronic leucosis. M.: Medicine. 2008. 200 p.

2. Zakharov Yu.M., Rassohin A.G. Erythroblastic island. M.: Medicine. 2002. 280 p.

3. Kazantceva I. A. Pathology of mitosis in the human's tumors. Novosibirsk: Science. 1981. 144 p.

4. Maeda N. Erythrocyte rheology in microcirculation // *Jap. J. Physiol*. 1996. V. 46 (1). Pз. 1-14.

5. Mongin A.A., Orlov S.N. Mechanisms of cell volume regulation and possible nature of cell volume sensor // *Pathophysiology*. 2001. Pp. 77-88.

6. Quere R., Andradottir S., Brun A.C.M., Zubarev R.A., Karlsson G., Olson K. High levels of the adhesion molecule CD44 on leukemic cells generate acute myeloid leukemia relapse after withdraw of the initial transforming event // *Leukemia*. 2011. V.5. Pp. 515-526.

7. Samanta A., Perarrona B., Chakraborty S., Sun X., Modi H., Bhaita R., Priebe W., Arlinghous J. Kinase 2 regulates Bcr-Abl signaling in chronic myeloid leukemia // *Leukemia*. 2011. V. 256. Pp. 463-472.

8. Schafranek L., Nievergall E., Powell J.A., Hiwasa D.K. Sustained inhibition of STAT 5, but not JAK 2, is essential for TKI-induced cell death in chronix myeloid leukemia // *Leukemia*. 2015. V. 29. Pp. 76-85.