

ТЕМА 1. КРОВ ЯК ВНУТРІШНЄ СЕРЕДОВИЩЕ ОРГАНІЗМУ. ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ КРОВІ ТА ПРОЯВИ ЇХ ПОРУШЕНЬ

Мета: Вивчити фізіологічні функції крові. Засвоїти склад, кількість та основні показники крові людини. З'ясувати фізико-хімічні властивості крові. Ідентифікувати види змін об'єму циркулюючої крові. Визначити межі коливань осмотичного тиску плазми крові, при яких ще зберігається цілісність оболонки еритроцитів і лейкоцитів, і дати оцінку стійкості оболонки цих видів клітин. Дослідити механічну резистентність еритроцитів. Визначити швидкість осідання еритроцитів.

ПИТАННЯ ДЛЯ ОБГОВОРЕННЯ

1. Фізіологічні функції крові.
2. Склад, кількість та основні показники крові людини.
3. Фізико-хімічні властивості крові.

Матеріали та обладнання: 5 звичайних лабораторних пробірок, 25 центрифужних або аглютинаційних пробірок об'ємом 10 мл, штативи для пробірок, гумові груші, піпетки, мікропіпетки, мікроскоп, лічильні камери Горяєва, піпетка від гемометра Салі, чотири змішувача для еритроцитів, предметні та шліфувальні скельця, скарифікатори, вата, прилад Панченкова, центрифуга на 500 і 2300 об/хв, 96% спирт етиловий, фізіологічний розчин, кров, свіжа або консервована 5% розчином цитрату натрію, 1 і 3% розчини хлориду натрію, 2,8 і 5% розчини цитрату натрію, 0,5% розчин желатини, рідина Локка (1 л дистильованої води, 9 г хлориду натрію, 0,42 г хлориду калію, 0,24 г хлориду кальцію та 0,2 г бікарбонату натрію), барвник для розведення крові (1,5 мл 1% розчину генціанового фіолетового, 1 мл розчину концентрованої оцтової кислоти, 20 мл дистильованої води), 0,1 н розчин соляної кислоти, дистильована вода.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА

Завдання 1. Визначення характеру змін об'єму циркулюючої крові.

Проаналізувати зміни об'єму циркулюючої крові, зображені на рис. 1 під номерами 2-9 (№ 1 – проста нормоволемія, або норма), та назвати патологічні стани, що їм відповідають.



Заштрихована частина смужок відповідає гематокриту, а їх загальна довжина – загальному об'єму крові.

Рисунок 1. Зміни об'єму циркулюючої крові.

Завдання 2. Визначення осмотичної резистентності еритроцитів макроскопічним методом Лімбека та Ріб'єра.

Принцип методу. Резистентність еритроцитів – це здатність оболонки еритроцитів протистояти руйнівній дії низького осмотичного тиску розчину, в якому знаходяться еритроцити. Унаслідок таких впливів може виникнути гемоліз – тобто руйнування оболонки еритроцитів. Для практичної медицини важливо визначити осмотичну резистентність, що характеризує фізико-хімічні властивості еритроцитів, насамперед еластичність та щільність їх оболонки, що неоднакові у старих і молодих клітин. Осмотичний гемоліз еритроцитів у нормі має певні параметри, які дуже розширюються при різноманітних порушеннях функції червоного кісткового мозку.

Досліджують резистентність мембрани еритроцитів відносно гіпотонічних розчинів натрію хлориду. При концентрації 0,48-0,46% у нормі настає гемоліз лише найменш стійких еритроцитів (мінімальна резистентність). Візуальне визначення рівня мінімальної резистентності – це перші, ледь вловимі сліди гемолізу еритроцитів, тобто поява в розчині легкого відтінку рожевого або жовтого.

У разі подальшого зменшення концентрації натрію хлориду починається гемоліз і стійкіших еритроцитів. У 0,34-0,32% розчині натрію хлориду руйнуються навіть найстійкіші еритроцити (максимальна резистентність). Розчин стає прозорим, схожим на лак (так званий лаковий розчин). Інтервал між верхньою та нижньою межами резистентності називається амплітудою резистентності.

Клінічне значення. Зменшення осмотичної резистентності еритроцитів спостерігається при гемолітичній хворобі новонароджених, спадковому мікросфероцитозі, а також (у меншому ступені вираженості) при токсикозах, бронхопневмоніях, гемобластозах і цирозах печінки.

Збільшення осмотичної резистентності еритроцитів спостерігається при механічній жовтяниці, поліцитемії, залізодефіцитній анемії, гемоглобінозі S і після масивної крововтрати.

Хід проведення. З 1 % розчину хлориду натрію в центрифужних або аглютинаційних пробірках виготовити ряд розведень за схемою:

№ пробірки	Кількість мл 1% NaCl	Кількість мл дистильованої води	Одержана концентрація розчину
1	0,70	0,30	0,7%
2	0,68	0,32	0,68%
3	0,66	0,34	0,66%
4	0,64	0,36	0,64%
5	0,62	0,38	0,62%
6	0,60	0,40	0,6%
7	0,58	0,42	0,58%
8	0,56	0,44	0,56%
9	0,54	0,46	0,54%
10	0,52	0,48	0,52%
11	0,50	0,50	0,5%
12	0,48	0,52	0,48%
13	0,46	0,44	0,46%
14	0,44	0,56	0,44%
15	0,42	0,58	0,42%
16	0,40	0,60	0,4%
17	0,38	0,62	0,38%
18	0,36	0,64	0,36%
19	0,34	0,66	0,34%
20	0,32	0,68	0,32%
21	0,30	0,70	0,3%
22	0,28	0,72	0,28%
23	0,24	0,76	0,24%

У кожен пробірку додати по 1 краплі свіжої або дефібринованої крові. Кров краще набирати піпеткою від гемометра Салі та вводити в кожен пробірку по 20 мкл. Вміст пробірок обережно перемішати до рівномірного забарвлення і залишити на 1 годину в штативі при кімнатній температурі. Через 1 годину, не збовтуючи вмісту пробірок, подивитись, де спостерігається руйнування оболонки еритроцитів (гемоліз). Стан крові оцінити за ступенем забарвлення розчину натрію хлориду, що міститься над осілими еритроцитами у пробірках.

Якщо візуально важко визначити результати дослідження, то потрібно провести центрифугування вмісту в пробірках впродовж 3 хв при 2300 об/хв.

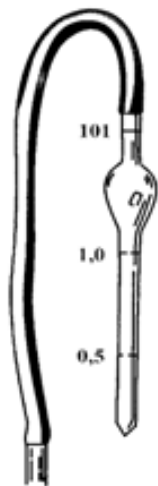
Оформити протокол досліду. Записати значення мінімальної та максимальної резистентності еритроцитів. Розрахувати її амплітуду. Зробити висновки.

Завдання 3. Визначення осмотичної резистентності еритроцитів мікроскопічним методом Яновського.

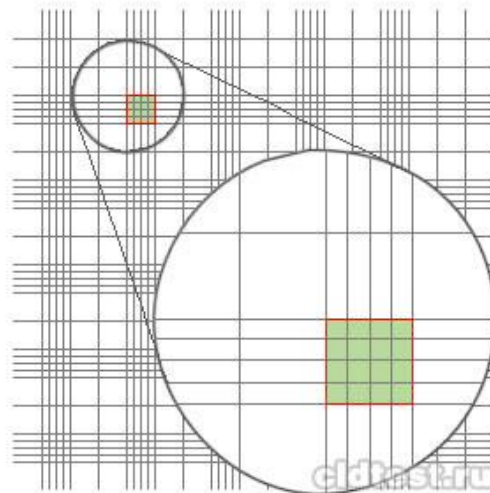
Принцип методу. Підрахунок у лічильній камері кількості еритроцитів, які залишаються в гіпотонічних розчинах.

Хід проведення. Використовувати три розчини хлориду натрію різної концентрації: 0,5% розчин, в якому гемоліз нормальної крові можливий, 0,4% розчин, в якому в звичайних умовах гемоліз достатньо виражений, і проміжний 0,46% розчин.

Досліджувану кров набрати в чотири змішувача для еритроцитів до мітки «0,5» і в трьох з них розвести кров зазначеними вище розчинами, а в четвертому – 3% розчином хлориду натрію до мітки «101» (розведення 1 : 200). Під малим збільшенням мікроскопу (об'єктив – 8×, окуляр – 15×) у затемненому полі зору (з прикритою діафрагмою і трохи опущеним конденсором) підрахувати кількість еритроцитів у 5 великих квадратах по діагоналі сітки Горяєва. За результатами підрахунку в лічильній камері обчислити процент стійких еритроцитів по відношенню до загальної кількості їх у 1 мкл крові, для чого провести підрахунок еритроцитів у 3 % розчині.



А



Б

А – змішувач (меланжер) для підрахунку еритроцитів; Б – лічильна сітка камери Горяєва (у збільшеному вигляді продемонстровано великий квадрат, поділений на 16 малих квадратів).

Рисунок 2. Обладнання для підрахунку кількості еритроцитів.

Оформити протокол досліду. Записати отримані результати. Зробити висновки.

Завдання 4. Визначення механічної резистентності еритроцитів методом Мармонта та Біанкі.

Принцип методу. Еритроцити травмуються механічно не до повного руйнування, а тільки до розпаду їх на окремі фрагменти.

Клінічне значення. Дослідження механічної резистентності еритроцитів має особливе значення при надбаних формах гемолітичної анемії, при яких, як відомо, зміни осмотичної резистентності часто не можуть бути виявлені без інкубації. Механічна резистентність знижена у хворих на гіпер- і гіпохромні анемії, для яких у розпал хвороби характерні сплюснена форма еритроцитів і підвищена осмотична резистентність. У хворих з вродженим сфероцитозом розпад еритроцитів на фрагменти не спостерігається.

Хід проведення. Кров взяти в кількості 1 мл (можна взяти з пальця) та стабілізувати її сумішшю 2,8% розчину цитрату натрію, 0,5% розчину желатини та рідини Локка (по 2 мл кожного). Потім кров потрібно центрифугувати 5 хв при 500 об/хв (не більше). Уламки еритроцитів, які при цьому утворюються, спливають у верхній шар розведеної плазми. Останню злити в іншу пробірку, знову центрифугувати також 5 хв при 500 об/хв. Фрагменти осідають на дно. З осаду приготувати мазки.

На свіжих препаратах серед маси еритроцитів, які збереглися, знайти фрагменти різної величини та форми: дрібні, великі, округлі, безформні, передstadії фрагментації, які залишаються ще з'єднаними з еритроцитами, що розпадаються. У забарвлених препаратах кількість фрагментів у мазках крові для підрахунку ступеня розпаду краще підраховувати по відношенню до 1000 еритроцитів, тобто в проміле (‰).

У нормі кількість фрагментів, які утворюються, не перевищує 0,75-3‰.

Оформити протокол, записати результати, зробити висновки.

Завдання 5. Визначення осмотичної резистентності лейкоцитів методом Педерціні, модифікованим Кучерою та співав.

Принцип методу. Зменшення через певні проміжки часу кількості лейкоцитів у крові, змішаною з гіпотонічним розчином хлориду натрію.

Клінічне значення. При сепсисі, пневмонії стрептококової етіології, анемії Бірмера виявлено зниження осмотичної стійкості полінуклеарів з подальшою нормалізацією в період клінічної ремісії. Підвищення осмотичної резистентності полінуклеарів відмічено при грипозних пневмоніях та в окремих випадках при злоякісних новоутвореннях.

Хід проведення. Кров, взяту з пальця в кількості 0,1 мл, ретельно перемішати в пробірці з 0,9 мл 0,2% розчину хлориду натрію. Перед кожним підрахунком розведену кров розмішати, до 0,1 мл її додати 0,1 мл барвників і після повторного розмішування заповнити лічильну камеру. Підрахунок формених елементів провести відразу після взяття крові та через 30, 60, 120 і 180 хв. Кінцеве розведення буде 20-кратне.

При визначенні у здорових людей осмотичної стійкості лейкоцитів по відношенню до 0,2% розчину хлориду натрію через 30, 60, 120 і 180 хв незруйнованими відповідно залишаються в середньому 94, 82, 43 і 26% полінуклеарів і 86, 68, 42, 25 % мононуклеарів. При значних зсувах формули вліво спостерігається швидке набухання й округлення ядра паличкоядерних і юних нейтрофілів у гіпотонічному розчині, що може призвести до помилкового зарахування цих клітин до групи мононуклеарів.

Оформити протокол, записати результати, зробити висновки.

Завдання 6. Визначення швидкості осідання еритроцитів методом Панченкова.

Принцип методу. Кров є одночасно справжнім колоїдним розчином і суспензією. Частки речовин, суспендовані у рідкому середовищі, випробовують на дію протилежно спрямованих сил: сили тяги, що забезпечує осідання часток, та дифузії, за рахунок якої частки колоїдів перемішуються.

Встановлено, що швидкість осідання частки прямо пропорційна квадрату її радіуса та різниці щільності суспендованої речовини й розчинника, а також зворотно пропорційна в'язкості розчинника. Велике значення мають і заряди часток, що містяться в розчині.

Формені елементи, суспендовані в розчині колоїдів плазми та міцно зв'язані з ними зарядами, осідатимуть у стабілізованій крові за рахунок посилення їх агломерації. При цьому кров розділиться на 2 шари: верхній – плазма та нижній – формені елементи.

Клінічне значення. Співвідношення холестерину й лецитину в плазмі, вміст жовчних пігментів та жовчних кислот, зміна в'язкості, рН, властивості еритроцитів, кількість гемоглобіну тощо впливають на швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ).

Головними ж чинниками, від яких залежить ШОЕ, вважають якісні та кількісні зміни білків у плазмі. Так, збільшення кількості великодисперсних білків (глобулінів) призводить до підвищення ШОЕ, а зменшення їх концентрації та збільшення вмісту альбумінів зумовлює її зниження.

ШОЕ дає деяке уявлення про співвідношення між білками плазми та їх електростатичну взаємодію з еритроцитами крові.

У фізіологічних умовах ШОЕ збільшується при вагітності (у другій половині) та при інтенсивній фізичній роботі.

Значний вплив на ШОЕ здійснює прийом деяких лікарських препаратів і терапевтичні заходи. Так, пришвидшення ШОЕ відмічається при специфічній та неспецифічній подразнюючій терапії, вакцинотерапії, переливанні крові, тривалому прийомі соди і т. д.

Уповільнення ШОЕ спостерігається при прийомі саліцилових, ртутних і кальцієвих препаратів, діуретиків, снодійних і протималярійних засобів.

Хід проведення. Прилад Панченкова складається з дерев'яного або пластмасового штатива з гніздами і скляних капілярів з мітками 0, К, Р. Мітки 0 і К знаходяться на одному рівні – 100 мм від кінця піпетки (рис. 3).

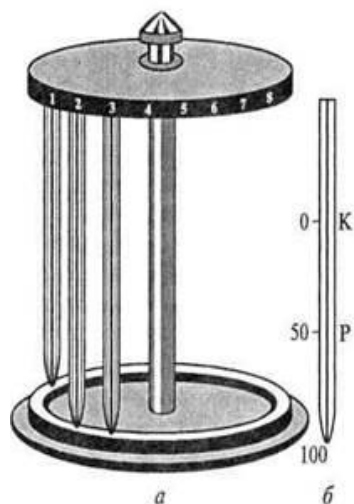


Рисунок 3. Прилад (апарат) Панченкова: а – загальний вигляд, б – капіляр.

Кров донора, змішану з 5 % розчином натрію цитрату у співвідношенні 4:1, перемішати й набрати її до відмітки К за допомогою груші. Для цього на початку роботи капіляр змочити 5 % розчином цитрату натрію. Потім розчин набрати до мітки Р (50 мм), перенести його на предметне скло. Після чого в цей же капіляр до мітки К набрати кров. Для попадання крові в капіляр кінчик його потрібно приставити до краплі крові, а сам капіляр потрібно тримати майже горизонтально, тоді кров набирається в капіляр швидше. Набрану кров видути на те саме предметне скло в розчин цитрату натрію. Суміш, яка утворилася, потрібно ретельно перемішати, набрати в піпетку та знов видути на предметне скло. Повторити декілька разів. Потім стабілізовану кров набрати в піпетку до мітки 0 і поставити в штатив. Для забору суміші потрібно капіляр перевести в горизонтальне положення, а кінчик його приставити до суміші, що знаходиться на предметному склі. Капіляр слід перевести у вертикальне положення, попередньо зажавши верхній отвір великим пальцем, і поставити в одне з гнізд апарата Панченкова. Верхній кінець капіляра можна відкрити тільки тоді, коли його нижній кінець щільно придавить гумову прокладку, що є в апараті Панченкова. Верхню частину капіляра також слід ретельно закріпити в апараті. Через 30 хв. та 1 год. визначити рівень осілих еритроцитів у капілярі. Швидкість осідання еритроцитів визначають за висотою стовпчика плазми, який знаходиться над осадам крові (у мм).

Оформити протокол, записати результати, зробити висновки.

ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Чи відповідають нормі межі зміни осмотичного тиску, за яких зберігається цілісність оболонки еритроцитів?
2. Про що може свідчити підвищення (чи зниження) меж резистентності?

3. Які бувають види гемолізу?
4. Про які зміни у складі плазми крові свідчить підвищення ШОЕ?

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Абдулкадыров К. М. Клиническая гематология: справочник. Санкт-Петербург : Питер, 2006. 448с.
2. Богданов А. Н., Волошин С. В., Кулибаба. Т. Г. Изменения в системе крови в клинической практике. Москва : Фолиант, 2017. 172 с.
3. Воробель А. В. Основи гематології : монографія. Івано-Франківськ : Вид-во «Плай» ЦІТ Прикарпатського університету імені Василя Стефаника, 2009. 148 с.
4. Гематологія : посібник / за ред. А. Ф. Романової. Київ : Медицина, 2006. 456 с.
5. Гематология. Национальное руководство / под ред. О. Я. Рукавицына. Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2017. 784 с.
6. Гематологія і трансфузіологія / під ред. С. М. Гайдукової. Київ : ВПЦ «Три крапки», 2001. 752 с.
7. Гематологические методы исследования. Клиническое значение показателей крови / В. Н. Блиндарь, Г. Н. Зубрихина, И. И. Матвеева, Н. Е. Кушлинский. Москва : МИА, 2013. 96 с.
8. Козинец Г. И., Высоцкий В. В. Кровь как индикатор состояния здоровья. Москва : Практическая медицина, 2014. 208 с.
9. Козловський Ю. К. Основи реології крові. *Biomedical and biosocial anthropology*. 2015. № 24. Р. 176–178.
10. Лабораторная гематология / С. А. Луговская, В. Т. Морозова, М. Е. Почтарь, В. В. Долгов. Москва : Триада, 2014. 218 с.
11. Фиясь А. Т., Ерш И. Р. Основы клинической гематологии. Минск: Вышэйшая школа, 2013. 271 с.
12. Шиффман Ф. Дж. Патология крови / пер. с англ. Н. Б. Серебряной, В. И. Соловьева. Москва : Санкт-Петербург : Бином, 2016. 448с.

ТЕМА 2. МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЕРИТРОЦИТІВ. СПОЛУКИ ГЕМОГЛОБІНУ ТА ЙОГО ФУНКЦІЇ

Мета: Знати морфофункціональну характеристику еритроцитів. Вивчити структуру, властивості та сполуки гемоглобіну. З'ясувати шляхи надходження заліза в організм і синтез гемоглобіну. Визначити кількість еритроцитів і гемоглобіну в периферичній крові. Провести розрахунок індексів еритроцитів. Підрахувати кількість ретикулоцитів у мазку крові. Отримати кристали геміну та вивчити їх під мікроскопом.

ПИТАННЯ ДЛЯ ОБГОВОРЕННЯ

1. Структура та функції еритроцитів.
2. Гемоглобін: структура, властивості, сполуки.
3. Надходження заліза в організм і синтез гемоглобіну.

Матеріали та обладнання: мікроскоп, лічильна камера Горяєва, штатив, піпетки, гемометр Салі (гемометр ГС-3), вологі камери (чашки Петрі з вологим фільтрувальним папером), скарифікатори, вата, гумова груша, предметні скельця, покривні скельця, спиртівка, 96% етиловий спирт, дистильована вода, фізіологічний розчин, 3%-й розчин хлориду натрію, 0,1 н розчин соляної кислоти, 1,2 % спиртовий розчин діаманткрезилового синього.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА

Завдання 1. Визначення кількості еритроцитів у 1 мкл крові.

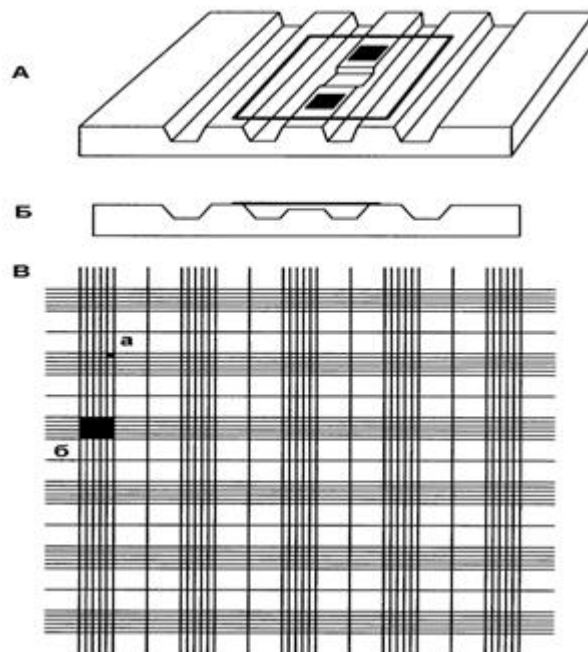
Принцип методу. В якості одного з уніфікованих методів використовують підрахунок еритроцитів у лічильній камері. Підрахунок кількості еритроцитів проводять під мікроскопом у певній кількості квадратів лічильної камери і перераховують на 1 л крові, виходячи з об'єму квадратів і розведення крові.

Клінічне значення. Зниження числа еритроцитів в крові є одним з основних критеріїв анемії. Ступінь еритропенії може варіювати при різних формах анемії. Підвищення кількості еритроцитів – еритроцитоз, може бути зумовлений багатьма причинами. Абсолютні еритроцитози супроводжують обструктивні захворювання легень, вади серця, захворювання центральної нервової системи. Відносні еритроцитози пов'язані з порушенням гемоконцентрації і характеризуються нормальним об'ємом циркулюючих еритроцитів при зниженні маси циркулюючої крові і маси циркулюючої плазми.

Будова камери Горяєва. Лічильна камера складається з товстого прямокутного (предметного) скла, в центральній частині якого нанесено дві

сітки Горяєва, що розмежовані глибокою поперечною канавкою. Збоку від сіток розташовані скляні прямокутні пластинки, до яких притирається шліфоване накривне скельце.

Сітка Горяєва складається з 225 великих квадратів. Частина з них розділено вертикально і горизонтально на 16 малих квадратів, які чергуються з квадратами, що поділені тільки горизонтальними або вертикальними лініями, і з чистими квадратами, без ліній. Глибина камери дорівнює $1/10$ мм, бік малого квадрата – $1/20$ мм, отже, об'єм одного малого квадрата становить $1/4000$ мм³ (рис. 1).



А, Б – зовнішній вигляд камери Горяєва; В – лічильна сітка камери: а – малий квадрат; б – великий квадрат.

Рисунок 1. Камера Горяєва.

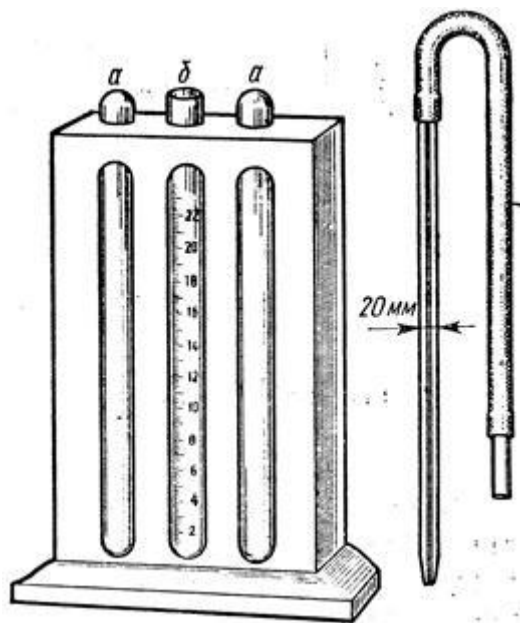
Хід проведення. У чисту суху пробірку відміряти піпеткою 4 мл 3%-го розчину хлориду натрію. З проколотою скарифікатором пальця в піпетку від гемометра Салі відібрати 20 мкл крові (до позначки на піпетці) і внести її в розчин у пробірці. Кілька разів промити розчином піпетку (втягуючи розчин у піпетку і видуваючи його у пробірку). Перемішати рідину в пробірці, стукаючи пальцем по її дну, щоб еритроцити розподілилися в рідині рівномірно. Кров розведена у 200 разів.

Потім заповнити камеру суспензією еритроцитів. Для цього піпеткою або скляною паличкою нанести краплю розведеної крові на середню пластинку біля краю покривного скла. Після заповнення камери вичекати 1-2 хв (доки осядуть формені елементи) і почати підрахунок при малому збільшенні мікроскопу в затемненому полі зору (з прикритою діафрагмою і трохи опущеним конденсором). Рахувати еритроцити у 5 великих або 80 малих квадратах

з соляною кислотою. При цьому червонуватий колір рідини стає бурим. Розчин розводять дистильованою водою до кольору стандарту з відомою концентрацією гемоглобіну.

Клінічне значення. Зниження концентрації гемоглобіну в крові є основним симптомом при гострій крововтраті або анемії: гіпопластичній, гемолітичній, В₁₂-дефіцитній. Підвищення концентрації гемоглобіну в крові може спостерігатися при мієлопроліферативних захворюваннях і при симптоматичних еритроцитозах.

Будова гемометра ГС-3 (гемометра Салі). Гемометр ГС-3 складається з пластмасового корпусу з трьома гніздами, задню стінку зроблено з матового скла. У два крайні гнізда вставлено запаяні пробірки, які містять кольоровий розчин солянокислого гематину. Середня відкрита градуйована пробірка призначена для досліджуваної крові. На ній нанесено дві шкали: одна показує концентрацію гемоглобіну в г% (градування від 2 до 23 г%), друга – відносних одиниць (градування до 140). 16,7 г% гемоглобіну прийнято за 100 одиниць. На всі три пробірки гемометра нанесено контрольні кругові позначки, які при аналізі мають бути на одному рівні. До приладу додано капіляр-піпетку на 20 мкл (0,02 мл) крові, скляні палички та очну піпетку (рис. 3).



а – запаяні пробірки зі стандартом, б – градуйована пробірка.

Рисунок 3. Гемометр Салі.

Хід проведення. У градуйовану пробірку гемометра Салі очною піпеткою налити 0,1 н розчин соляної кислоти до позначки «10». Потім взяти кров із судини в капіляр до позначки (20 мкл), обітерти кінчик капіляра ватою, занурюють його у пробірку і видути кров на дно пробірки так, щоб верхній шар соляної кислоти залишився непофарбованим. Не виймаючи піпетку, промити її

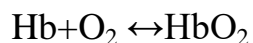
розчином соляної кислоти з верхнього шару, а потім дистильованою водою, видути її у пробірку. Після цього вміст пробірки перемішати, постукуючи пальцем по дну, поставити пробірку в середнє гніздо гемометра на 5-10 хв. Це час, необхідний для повного перетворення гемоглобіну на солянокислий гематин. Потім у пробірку по краплі додати очною піпеткою дистильовану воду доки колір розчину не стане однаковим із стандартом. Додаючи воду, розчин перемішати скляною паличкою. Провести відлік по градуйованій шкалі пробірки.

Цифра на рівні нижнього меніска одержаного розчину по шкалі грапроценти (г%) вказує на абсолютний вміст гемоглобіну (кількість гемоглобіну в 100 г крові). Друга шкала вказує на відносний вміст гемоглобіну – кількість гемоглобіну даної крові, виражена у відсотках до верхньої межі норми (16,7 г%).

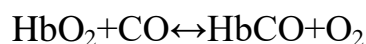
Оформити протокол, записати одержані результати. Зробити висновки щодо вмісту гемоглобіну в крові, виходячи з показників норми (абсолютний вміст гемоглобіну в крові чоловіків – 14,0-16,0 г% і жінок – 12,0-14,0 г%; відносний вміст гемоглобіну в крові чоловіків – 80-90 % і жінок – 70-80 %).

Завдання 3. Якісне визначення сполук гемоглобіну.

Принцип методу. Гемоглобін взаємодіє з киснем, утворюючи оксигемоглобін:

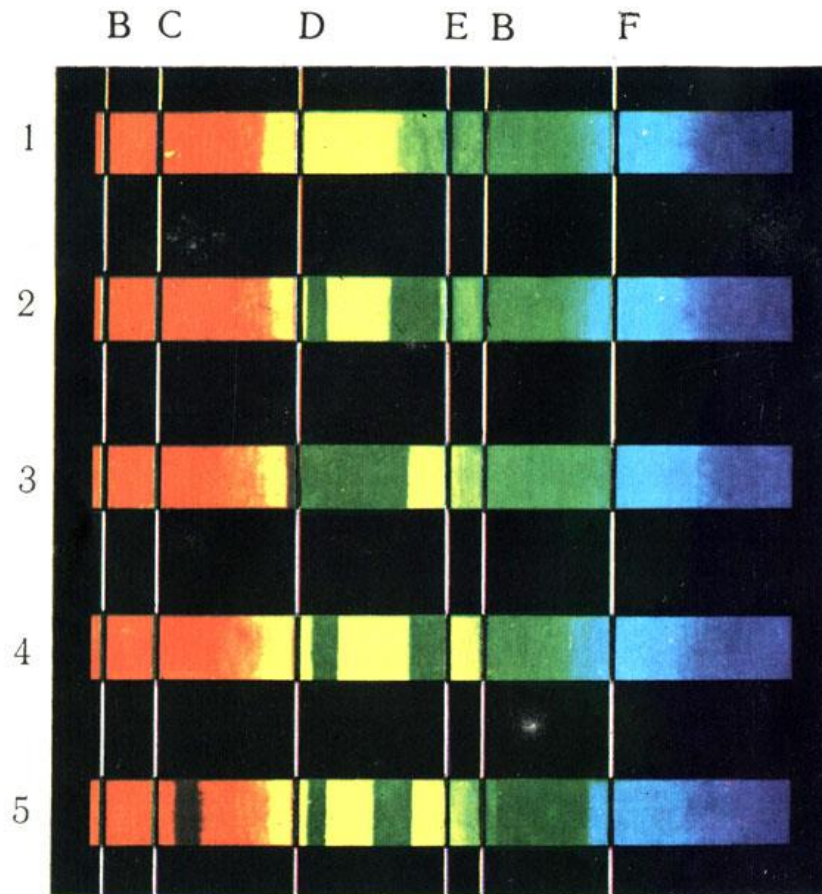


Оксид вуглецю має більшу спорідненість до гемоглобіну, ніж кисень:



Цим пояснюється висока токсичність окису вуглецю. Проте, оскільки ця реакція зворотна, є можливість витіснити СО, помістивши хворого в атмосферу, збагачену киснем. У здорових людей гемоглобін в крові знаходиться, головним чином, у вигляді оксигемоглобіну, карбогемоглобіну і в невеликій кількості – метгемоглобіну, карбоксигемоглобіну. Гемоглобін і його похідні являють собою забарвлені сполуки і мають характерні спектри поглинання у видимій області (рис. 4).

При спектральному аналізі HbO_2 має 2 смуги поглинання в зеленій (578) і жовтої області (540). Смуги поглинання HbCO розташовані подібним чином, але дещо зрушені в короткохвильову область. Hb дає одну широку смугу поглинання (смугу Стокса – 554). Метгемоглобін (Мет Hb) дає смугу поглинання в червоній області (637).



1 – сонячний спектр; 2 – оксигемоглобін; 3 – гемоглобін;
4 – карбоксигемоглобін; 5 – метгемоглобін.

Рисунок 4. Спектри поглинання гемоглобіну та його похідних.

Спектри поглинання гемоглобіну та його похідних зарисувати в зошит.

Завдання 4. Розрахунок колірного показника крові.

Принцип методу. Співвідношення між кількістю гемоглобіну крові та числом еритроцитів називають колірним показником. Колірний показник (КП) дозволяє оцінити ступінь насичення еритроцитів гемоглобіном.

Клінічне значення. Обчислення колірного показника має діагностичне значення при захворюваннях крові. За величиною колірного показника прийнято ділити анемії на гіпохромні, нормохромні і гіперхромні. Гіпохромні анемії (з колірним показником менше 0,85) широко поширені і спостерігаються насамперед при дефіциті заліза, викликаному різними причинами. Особливо вираженою гіпохромією (0,6-0,5 і нижче) характеризуються залізодефіцитні анемії, обумовлені хронічними крововтратами. Менш виражена гіпохромія еритроцитів (0,7-0,8) спостерігається при залізодефіцитній анемії вагітних, при інфекціях, пухлинах. підвищення колірного показника – гіперхромія – є характерною ознакою B_{12} -дефіцитних і фолієводефіцитних анемії. Особливо

виражена гіперхромія еритроцитів (1,2-1,3) при рецидивах анемії Аддісона-Бірмера. Нормохромні анемії спостерігаються при деяких гемолітичних формах неокрів'я, гострих крововтратах, лейкозах, які супроводжують цироз печінки.

Хід проведення. Колірний показник розрахувати його за формулою 2:

$$\text{КП} = \frac{\text{встановлена кількість гемоглобіну} \times \text{встановлена кількість еритроцитів}}{\text{нормальна кількість гемоглобіну} \times \text{нормальна кількість еритроцитів}} .$$

Наприклад, якщо в крові знайдено 80 % гемоглобіну та 4 млн/мкл еритроцитів, то колірний показник крові буде дорівнювати:

$$\frac{80}{100} \div \frac{4000000}{5000000} = \frac{80 \times 5000000}{100 \times 4000000} = \frac{8 \times 5}{10 \times 4} = 1$$

На практиці колірний показник можна вираховувати діленням встановленої кількості гемоглобіну на три перші цифри встановленого числа еритроцитів та множенням отриманого на 5.

У патології колірний показник може бути вище одиниці (гіперхромазія) або нижче одиниці (гіпохромазія). У нормі він складає 0,8-1,0.

Оформити протокол, записати результати, зробити висновки.

Завдання 5. Визначення середнього вмісту гемоглобіну в еритроциті.

Принцип методу. Показник відображає абсолютний вміст гемоглобіну в одному еритроциті в пікограмах (пг).

Клінічне значення. Зниження відображає гіпохромію та спостерігається при залізодефіцитних анеміях, підвищення має місце при макроцитарних і, особливо, мегалоцитарних анеміях.

Хід проведення. Визначити шляхом ділення концентрації гемоглобіну в 1 мкл крові на число еритроцитів в тому ж об'ємі.

Приклад: концентрація гемоглобіну в крові дорівнює 12 г / 100 мл, кількість еритроцитів в 1 мкл крові – 4 000 000.

$$12 \text{ г \%} = 12000 \text{ мг} / 100 \text{ мл} = 12 \text{ мг в } 1 \text{ мкл} = 120000000 \text{ пг} \left(1 \text{ пг} = \frac{1}{1000000000} \text{ мг} \right).$$

$$\text{Середній вміст гемоглобіну} = \frac{120000000 \text{ пг}}{4000000} = 30 \text{ пг, тобто практично треба}$$

вміст гемоглобіну в г / 100 мл помножити на 10 і розділити на число мільйонів еритроцитів в крові. Розрахунок показника можна зробити по номограмі (за Мазоном). У сучасних гематологічних автоматах цей показник (МСН) визначають розрахунковим шляхом. Нормальні величини складають 24-33 пг.

Оформити протокол, записати результати, зробити висновки.

Завдання 6. Визначення середньої концентрації гемоглобіну в еритроциті.

Принцип методу. Показник відображає ступінь насичення еритроцита гемоглобіном в процентах. У нормі на 100 мл крові припадає 42 мл еритроцитів, а вміст гемоглобіну на 100 мл становить 14,5 г гемоглобіну.

Клінічне значення. Зниження показника відображає абсолютну гіпохромію і є характерним для залізодефіцитних анемії. Чутливість цього індексу еритроцитів при залізодефіцитних анеміях становить 85%. Зниження показника виявлено так само при макроцитарних і особливо мегалоцитарних анеміях, коли обсяг еритроцитів, збільшений непропорційно більше значно порівняно зі збільшенням насичення еритроцитів гемоглобіном.

1. MCH – Mean Corpuscular Hemoglobin.
2. MCHC – Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration.
3. MCV – Mean Corpuscular Volume.

Хід проведення. Середню концентрацію гемоглобіну в еритроциті розрахувати за формулою 3:

Середня концентрація гемоглобіну в еритроциті = $(\text{Hb, г на 100 мл} / \text{загальний об'єм еритроцитів, мл на 100 мл}) \times 100$ (3).

Враховуючи, що 42 мл еритроцитів містять 14,5 г гемоглобіну, скласти просту пропорцію та отримати результат: 100 мл еритроцитів містять 34,5 г гемоглобіну.

Можна обчислити шляхом ділення концентрації гемоглобіну в г / 100 мл на гематокритну величину і множення на 100.

Приклад: концентрація гемоглобіну 12 г / 100 мл, гематокрит 40 об. %.

Середню концентрацію гемоглобіну в еритроциті розрахувати за формулою 4:

$$(\text{MCHC})^2 = \frac{12}{40} * 100 = 30\%$$

(4).

Можна легко розрахувати, використовуючи номограму за Мазоном (рис.4). Показник включений в програму сучасних гематологічних автоматів.

Нормальні величини MCHC коливається в межах 30-38%. Величина найбільш константна, насичення вище 38% не буває.

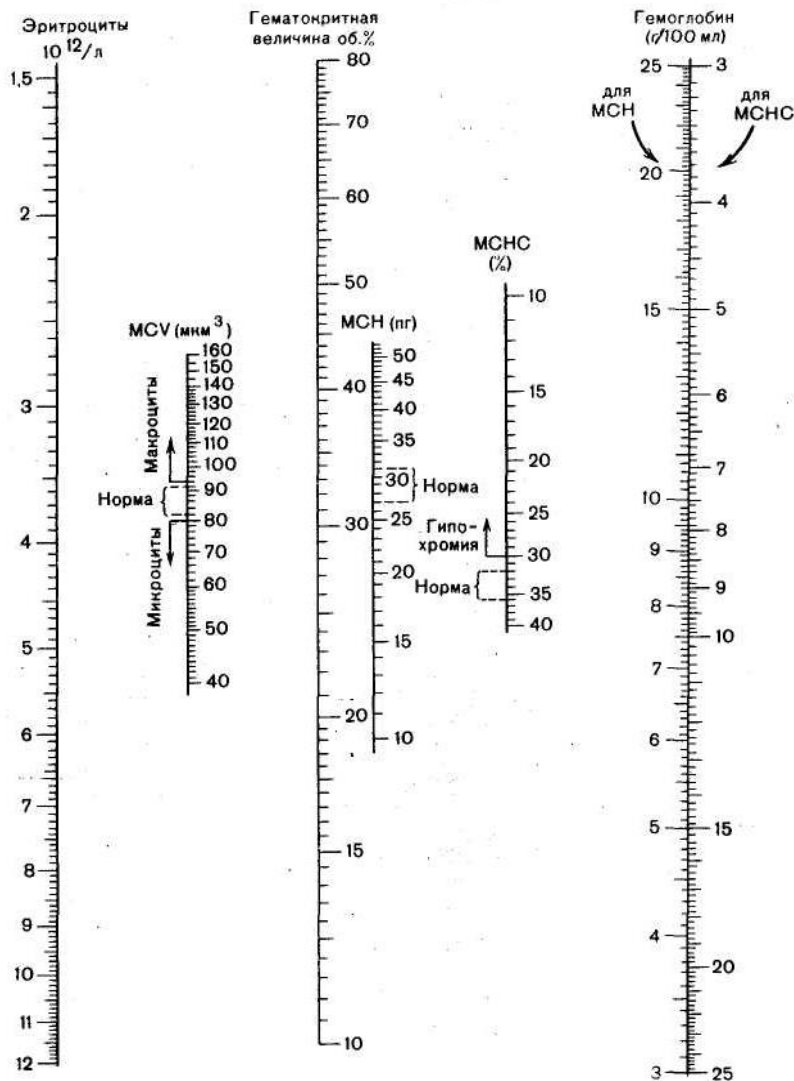


Рисунок 5. Номограма для обчислення індексів еритроцитів за Мазоном.

Оформити протокол, записати результати, зробити висновки.

Завдання 7. Визначення середнього об'єму еритроцитів.

Принцип методу. Показник є важливим при діагностиці різних форм анемії.

Клінічне значення. Підвищення показника спостерігається при макроцитарних і мегалоцитарних анеміях, особливо високе значення відзначається при В₁₂-дефіцитних анеміях. Зниження показника відзначається при мікроцитарних анеміях.

Хід проведення. Обчислити шляхом ділення гематокритної величини на загальну кількість еритроцитів у крові. Середній обсяг еритроцитів (MCV)³ виражають у кубічних мікронах або кубічних мікрометрах.

Приклад: гематокрит – 40 об.%, або 0,40 мм³, або 400 000 000 мкм³); еритроцити – 4 500 000 в 1 мкл. Розрахувати за формулою 5:

$$MCV = \frac{400000000 \text{ мкм}^3}{4500000} = \frac{4000}{450} = 88 \text{ мкм}^3 \quad (5).$$

Практично для обчислення показника треба величину гематокриту поділити на число еритроцитів в мільйонах і помножити на 10.

Можна розрахунок вести по номограмі.

У програмі сучасних гематологічних комплексів і автоматів цей параметр визначають або кондуктометрично (вітчизняний гематологічний комплекс КГ-2), або розрахунковим шляхом. Нормальні величини складають 75-95 мкм³.

Оформити протокол, записати результати, зробити висновки.

Завдання 8. Підрахунок кількості ретикулоцитів у мазку крові.

Принцип методу. Виявлення зернисто-сітчастої субстанції еритроцитів при забарвленні лужним барвником з подальшим підрахунком їх у мазку крові.

Клінічне значення. Ретикулоцити – молоді еритроцити. В умовах стимуляції еритропоезу при анемії кількість ретикулоцитів у периферичній крові збільшується. Зменшення кількості ретикулоцитів або відсутність їх свідчить про пригнічення або припинення еритропоезу.

Хід проведення. Приготування мазка крові. Для виявлення ретикулоцитів використати прижиттєве забарвлення їх у нефіксованому вологому мазку крові. При забарвленні на предметному склі нанести на нього попередньо тонкий шар барвника – діаманткрезилового синього (1,2 % розчин в абсолютному спирті). Потім зробити на цьому склі звичайний мазок крові та швидко помістити його у вологу камеру (чашка Петрі з вологим фільтрувальним папером) на 10 хв. За цей час сухий барвник, попередньо нанесений на предметне скло, забарвлює еритроцити, особливо їх базофільні елементи, які є в молодих еритроцитах. Базофільні елементи клітини випадають у вигляді сіточки (ретикулуму) або зерен. Після забарвлення протягом 10 хв у вологій камері мазок вийняти і висушити його на повітрі, а потім дослідити під мікроскопом при імерсійному збільшенні з піднятим конденсором. При забарвленні таким методом еритроцити стають зеленими або жовто-зеленими, а зернисто-ретикулярна субстанція – темно-синьою.

Підрахунок кількості ретикулоцитів. Переглядаючи мазок, порахувати в обмеженому полі зору еритроцити (до 1000) і визначити кількість ретикулоцитів у цьому ж полі зору у відсотках (%). Обмеження поля зору досягти вкладанням усередину окуляра вирізаної з паперу діафрагми.

Нормальний вміст їх у крові дорослих людей – 0,5-4%; у новонароджених – 2,8-6%; у дітей 6 міс. – 1,4%; 1 року – 0,9%.

У протоколі роботи зарисувати ретикулоцити, навести результати підрахунку їх кількості і зробити висновок про інтенсивність еритропоезу в обстеженої людини.

Завдання 9. Отримання кристалів геміну та вивчення їх під мікроскопом.

Принцип методу. Гемоглобін крові в присутності концентрованої оцтової кислоти та хлориду натрію переходить у сполуку, що називається гемін. У геміні залізо тривалентне та пов'язане з хлором. Практично для отримання кристалів геміну додається тільки концентрована оцтова кислота, або іони Na^+ та Cl^- завжди є в плазмі крові.

Клінічне значення. Гемін має характерну форму кристалів (рис. 6), що дозволяє використовувати цю реакцію в практиці судової медицини для виявлення плям крові.

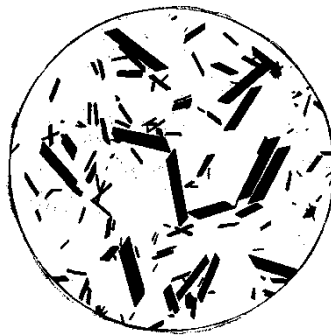


Рисунок 6. Кристали геміну під мікроскопом.

Хід проведення. Помістити краплю крові на край предметного скла та розподілити її по всій поверхні тонким шаром. Для цього друге предметне скло приставити коротким краєм до краплі крові так, щоб між двома скельцями утворився гострий кут. Зробити мазок крові, переміщуючи друге скло по поверхні першого.

Підсушити мазок на повітрі (без нагріву). Зішкребти підсушену кров, залишивши її на тому ж склі. Додати 1-2 краплі концентрованої оцтової кислоти, ретельно перемішати, накрити покривним склом та дуже повільно, обережно нагрівати отриману суміш, проносячи скло над полум'ям спиртівки.

Знайти кристали геміну, що утворилися, при малому збільшенні, а потім розглянути їх при великому збільшенні. Зарисувати форму кристалів у зошит.

ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Опишіть будову камери Горяєва.
2. Як практично можна визначити рівень гемоглобіну в крові?
3. Про що свідчить зниження колірного показника в крові?
4. На що вказує зменшення кількості ретикулоцитів у мазку крові?

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Абдулкадыров К. М. Клиническая гематология: справочник. Санкт-Петербург : Питер, 2006. 448с.

2. Анемии. Краткое руководство / под ред. О. А. Рукавицына. Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2018. 176 с.
3. Воробель А. В. Основы гематології : монографія. Івано-Франківськ : Вид-во «Плай» ЦІТ Прикарпатського університету імені Василя Стефаника, 2009. 148 с.
4. Гематологія : посібник / за ред. А. Ф. Романової. Київ : Медицина, 2006. 456 с.
5. Гематология. Национальное руководство / под ред. О. Я. Рукавицына. Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2017. 784 с.
6. Гематологія і трансфузіологія / під ред. С. М. Гайдукової. Київ : ВПЦ «Три крапки», 2001. 752 с.
7. Гематологические методы исследования. Клиническое значение показателей крови / В. Н. Блиндарь, Г. Н. Зубрихина, И. И. Матвеева, Н. Е. Кушлинский. Москва : МИА, 2013. 96 с.
8. Лабораторная гематология / С. А. Луговская, В. Т. Морозова, М. Е. Почтарь, В. В. Долгов. Москва : Триада, 2014. 218 с.
9. Фиясь А. Т., Ерш И. Р. Основы клинической гематологии. Минск: Вышэйшая школа, 2013. 271 с.
10. Шиффман Ф. Дж. Патолофизиология крови / пер. с англ. Н. Б. Серебряной, В. И. Соловьева. Москва : Санкт-Петербург : Бином, 2016. 448с.

ТЕМА 3. ЯКІСНІ ТА КІЛЬКІСНІ ЗМІНИ ЕРИТРОЦИТІВ

Мета: Вивчити види еритроцитів, аномальні за розміром, забарвленням і формою, вміти розпізнавати їх на мазках периферичної крові, сформуванати уявлення про причини та захворювання, при яких спостерігаються дані патології. Знати види кількісних змін еритроцитів і стани, що вони супроводжують.

ПИТАННЯ ДЛЯ ОБГОВОРЕННЯ

1. Зміни розміру еритроцитів (анізоцитоз).
2. Зміни форми еритроцитів (пойкілоцитоз).
3. Анізохромія еритроцитів, причини та захворювання, при яких спостерігається дана патологія.
4. Елементи патологічної регенерації клітин червоного паростка.
5. Кількісні зміни еритроцитів.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА

Завдання 1. Вивчення аномальних за розміром видів еритроцитів.

Анізоцитоз – це присутність в крові еритроцитів, що розрізняються за розміром.

Таблиця 1 – Види аномальних за розміром еритроцитів

Вид змін	Зображення	Характеристика
Шизоцитоз		Наявність у мазках крові еритроцитів з діаметром ... мкм. Патологічні стани:
Мікроцитоз		Наявність в мазках крові еритроцитів з діаметром ... мкм. Патологічні стани:
Макроцитоз		Наявність в мазках крові еритроцитів з діаметром ... мкм. Патологічні стани:

Мегалоцитоз		Наявність в мазках крові еритроцитів з діаметром ... мкм. Патологічні стани:
-------------	--	---

Заповнити таблицю 1: зарисувати зовнішній вигляд аномальних еритроцитів, вказати їх розмір і патологічні стани, при яких ці клітини зустрічаються.

Завдання 2. Вивчення аномальних за формою видів еритроцитів.

Пойкілоцитоз – це наявність в крові різних форм еритроцитів.

Таблиця 2 – Види аномальних за формою еритроцитів

Зміна форми еритроцита	Зображення	Характеристика
Сфероцити		Особливості морфології: Зустрічаються при:
Мікросфероцити		Особливості морфології: Зустрічаються при:
Овалоцити (еліптоцити)		Особливості морфології: Зустрічаються при:
Стоматоцити (гідроцити)		Особливості морфології: Зустрічаються при:
Дрепаноцити		Особливості морфології: Зустрічаються при:
Конвертоподібні еритроцити		Особливості морфології: Зустрічаються при:
Мішенеподібні еритроцити (кодоцити)		Особливості морфології: Зустрічаються при:
Акантоцити		Особливості морфології: Зустрічаються при:

Ехіноцити (еритроцити у вигляді «морського їжака»)		Особливості морфології: Зустрічаються при:
Кератоцити		Особливості морфології: Зустрічаються при:
Дакріоцити – сльозоподібні еритроцити		Особливості морфології: Зустрічаються при:
Хвостаті еритроцити		Особливості морфології: Зустрічаються при:
Ахромоцити		Особливості морфології: Зустрічаються при:
Анулоцити, планоцити		Особливості морфології: Зустрічаються при:
Шистоцити		Особливості морфології: Зустрічаються при:
«Bizzard»- форми		Особливості морфології: Зустрічаються при:
Клітини - «жетони»		Особливості морфології: Зустрічаються при:
«Монетні стовпчики»		Особливості морфології: Зустрічаються при:

Заповнити таблицю 2: зарисувати зовнішній вигляд аномальних за формою еритроцитів, вказати особливості їх морфології і патологічні стани, при яких ці клітини зустрічаються.

Завдання 3. Вивчення елементів патологічної регенерації.

Включення в еритроцитах є результатом патологічної регенерації клітин червоного паростка. При мегалобластичному типі еритропоезу в еритроцитах визначаються кільця Кебота, тільця Жоллі, пилінки Вейденрейха, основним компонентом яких є ДНК.

Таблиця 3 – Елементи патологічної регенерації

Включення	Зображення	Характеристика
Кільця Кебота		Особливості морфології: Зустрічаються при:
Тільця Жоллі		Особливості морфології: Зустрічаються при:
Порошинки Вейденрейха		Особливості морфології: Зустрічаються при:
Базофільна зернистість		Особливості морфології: Зустрічаються при:
Тільця Гейнца - Ерліха		Особливості морфології: Зустрічаються при:
Гранули гемосидерину		Особливості морфології: Зустрічаються при:

Завдання 4. Розв'язування ситуаційних задач.

Ситуаційна задача № 1. У хворого М., 39 років, з хронічною дихальною недостатністю при загальному аналізі в крові виявлено:

Аналіз крові при надходженні:

Еритроцити	$6,6 \times 10^{12}/\text{л}$
Гемоглобін	182 г/л
Ретикулоцити	3,7 %
Колірний показник	розрахувати
Лейкоцити	$7,2 \times 10^9/\text{л}$
базофіли	0,5 %
еозинофіли	2 %
нейтрофіли:	
– юні	0 %
– паличкоядерні	6 %
– сегментоядерні	62 %
лімфоцити	25 %
моноцити	4,5 %
Тромбоцити	$200 \times 10^9/\text{л}$
У мазку незначний анізоцитоз	

1. Визначте характер змін периферичної крові в даному випадку.
2. Який патогенез цих змін?

Ситуаційна задача № 2. Хворий Т., 54 років, протягом останніх 6-8 міс скаржиться на частий головний біль, пов'язаний з підвищенням артеріального тиску. Він перебуває на диспансерному обліку з приводу артеріальної гіпертензії.

При дослідженні крові під час оформлення санаторно-курортної карти виявлено:

Аналіз крові при надходженні:

Еритроцити	$7,1 \times 10^{12}/\text{л}$
Гемоглобін	178 г/л
Ретикулоцити	4,8 %
Колірний показник	розрахувати
Лейкоцити	$15,6 \times 10^9/\text{л}$
базофіли	1 %
еозинофіли	6 %
нейтрофіли:	
– юні	2 %
– паличкоядерні	11 %
– сегментоядерні	62 %
лімфоцити	14 %
моноцити	4 %
Тромбоцити	$490 \times 10^9/\text{л}$
Насичення артеріальної крові киснем становить 96%.	

1. Для якої патології системи крові характерні подібні зміни?
2. З якою метою хворому проведено дослідження напруги кисню в крові?
3. Яка ймовірна причина підвищення артеріального тиску в даному випадку?

Ситуаційна задача № 3. 50-річний хворий, що страждає на артеріальну гіпертензію, звернувся з приводу підвищення температури до 38-39 °С протягом 3 тижнів. Антибактеріальна терапія цефотаксимом була неефективною. При амбулаторному обстеженні виявлено підвищення в крові кількості еритроцитів і рівня гемоглобіну. Анамнез хворого без особливостей. Не курить, алкоголем не зловживає. Протягом 2 років спостерігалось підвищення артеріального тиску до 170/100 мм рт.ст. Лікується гіпотензивними препаратами без вираженого ефекту. З боку внутрішніх органів – без особливостей.

Аналіз крові при надходженні:

Еритроцити	$6,5 \times 10^{12}/\text{л}$
Гемоглобін	170 г/л
Колірний показник	розрахувати
Лейкоцити	$9 \times 10^9/\text{л}$
базофіли	0 %
еозинофіли	2 %
нейтрофіли:	
– юні	2 %
– паличкоядерні	6 %
– сегментоядерні	64 %
лімфоцити	26 %
моноцити	2 %
Тромбоцити	$250 \times 10^9/\text{л}$
ШОЕ	5 мм/год

При розгляді попередніх аналізів крові звертає на себе увагу тенденція до збільшення кількості еритроцитів протягом останніх декількох місяців.

Загальний аналіз сечі: відносна щільність – 1018, білок – 0,66‰, еритроцити – 10-15 у полі зору, лейкоцити – 2-3 у полі зору.

При рентгенографії органів грудної клітини патології не виявлено. УЗД нирок – збільшення розмірів лівої нирки, невеликий конкремент. Проведена комп'ютерна томографія.

1. Визначте характер змін периферичної крові в даному випадку.
2. Який патогенез цих змін?

ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Назвіть види аномальних за розміром еритроцитів.
2. Про що свідчить збільшення кількості регенеративних форм еритроцитів у периферичній крові?
3. При яких хворобах спостерігається анізохромія еритроцитів?
4. Чим відрізняються абсолютний еритроцитоз від відносного?

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Абдулкадыров К. М. Клиническая гематология: справочник. Санкт-Петербург : Питер, 2006. 448с.
2. Анемии. Краткое руководство / под ред. О. А. Рукавицына. Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2018. 176 с.
3. Воробель А. В. Основы гематологии : монографія. Івано-Франківськ : Вид-во «Плай» ЦІТ Прикарпатського університету імені Василя Стефаника, 2009. 148 с.

4. Гематологія : посібник / за ред. А. Ф. Романової. Київ : Медицина, 2006. 456 с.
5. Гематология. Национальное руководство / под ред. О. Я. Рукавицына. Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2017. 784 с.
6. Гематологія і трансфузіологія / під ред. С. М. Гайдукової. Київ : ВПЦ «Три крапки», 2001. 752 с.
7. Гематологические методы исследования. Клиническое значение показателей крови / В. Н. Блиндарь, Г. Н. Зубрихина, И. И. Матвеева, Н. Е. Кушлинский. Москва : МИА, 2013. 96 с.
8. Лабораторная гематология / С. А. Луговская, В. Т. Морозова, М. Е. Почтарь, В. В. Долгов. Москва : Триада, 2014. 218 с.
9. Фиясь А. Т., Ерш И. Р. Основы клинической гематологии. Минск: Вышэйшая школа, 2013. 271 с.
10. Шиффман Ф. Дж. Патопфизиология крови / пер. с англ. Н. Б. Серебряной, В. И. Соловьева. Москва : Санкт-Петербург : Бином, 2016. 448с.

ТЕМА 4, 5. АНЕМІЇ

Мета: Розглянути етіологію, класифікацію, характеристику різних видів анемії та вміти їх диференціювати. Знати картину крові при цих видах патології крові.

ПИТАННЯ ДЛЯ ОБГОВОРЕННЯ

1. Анемії: визначення, етіологія та класифікація.
2. Постгеморагічні анемії.
3. Гемолітичні анемії.
4. Анемії внаслідок порушення кровотворення.

Матеріали та обладнання: мікроскоп, мазки периферичної крові хворих на анемію, імерсійна олія.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА

Завдання 1. Вивчення мазка крові при залізодефіцитній анемії.

Розглянути під мікроскопом при збільшенні 10×90 мазок периферичної крові хворого на залізодефіцитну анемію. Відзначити наявність гіпохромних еритроцитів; невеликий анізо- і поїкілоцитоз.

Замалювати у вигляді поля зору мікроскопа картину крові у хворих при залізодефіцитній анемії. Позначити цифрами на малюнку і записати під ним назву побачених клітин еритроцитарного ряду. Для малювання використовувати кольорові олівці.

Завдання 2. Вивчення мазка крові при B_{12} - і фолієводефіцитній анемії.

Під мікроскопом при збільшенні 10×90 розглянути мазок крові хворого на B_{12} - і фолієводефіцитну анемію. Звернути увагу на виражений анізоцитоз, поїкілоцитоз (круглі, грушоподібні, овальні еритроцити); анізохромію та гіперхромію, наявність мегалоцитів, еритроцитів з тільцями Жоллі, кільцями Кабо, базофільною пунктацією; а також одиничних мегалобластів і гігантських полісегментоядерних лейкоцитів.

Замалювати у вигляді поля зору мікроскопа картину крові у хворих при B_{12} - і фолієводефіцитній анемії. Позначити цифрами на малюнку і записати під ним назву побачених клітин еритроцитарного ряду. Для малювання використовувати кольорові олівці.

Завдання 3. Вивчення мазка крові при апластичній анемії.

Розглянути під мікроскопом при збільшенні 10×90 мазок периферичної крові хворого на апластичну анемію. Звернути увагу на тенденцію до панцитопенії, відсутність поліхроматофілії, базофільної зернистості і ретикулоцитів.

Замалювати у вигляді поля зору мікроскопа картину крові у хворих при апластичній анемії. Позначити цифрами на малюнку і записати під ним назву клітин еритроцитарного ряду. Для малювання використовувати кольорові олівці.

Завдання 4. За даними підручників, атласу, таблиць та інших джерел заповнити таблицю.

Таблиця – Морфофункціональна характеристика деяких анемій

Анемія	Тип кровотворення	КП	Розмір клітин	Здібність кісткового мозку до регенерації	Найбільш характерні патологічні форми еритроцитів	Зміни з боку лейкоцитарного та тромбоцитарного паростка
Гостра постгеморагічна						
Fe-дефіцитна						
B ₁₂ - і фолієво-дефіцитна						
Таласемія						
Автоімунна гемолітична						
Апластична						

Охарактеризувати різні види анемій за морфофункціональними ознаками:

I. За типом кровотворення:

- мегалобластичні:
- нормобластичні:

II. За колірним показником:

- гіпохромні:
- гіперхромні:
- нормохромні:

III. За розмірами клітин:

- мікроцитарні:
- макроцитарні:
- нормоцитарні:

IV. За здатністю кісткового мозку до регенерації:

- гіпо- та арегенаторні:
- регенаторні і гіперрегенаторні:

Завдання 5. Розв'язування ситуаційних задач.

Ситуаційна задача № 1. Хворий 66 років скаржиться на серцебиття, загальну слабкість, парестезії, зниження чутливості в ногах, порушення смаку, нюху.

У крові: еритроцити – $2,1 \times 10^{12}$ / л, Нb – 84 г / л, КП – 1,2, макроцитоз, полісегментація ядер нейтрофілів.

1. Який тип кровотворення у хворого?
2. Що відіграє провідну роль в патогенезі даного стану?

Ситуаційна задача № 2. Чоловік 42 років скаржиться на слабкість, серцебиття, носові кровотечі, поява крововиливів на шкірі. Об'єктивно: стан тяжкий, на шкірі тулуба і кінцівок петехіальні крововиливи, лімфовузли пальпуються, пульс – 116 уд/ хв, печінка – +2 см, селезінка не пальпується. У крові: виражена панцитопенія.

1. Про яке захворювання слід думати в першу чергу?
2. Що відіграє провідну роль в патогенезі даної хвороби?

Ситуаційна задача № 3. Хвора 60 років скаржиться на слабкість, запаморочення, тяжкість у верхній частині живота, парестезії пальців рук і ніг. Об'єктивно: жовтушність шкіри, язик малинового кольору, гладкий. Гепатомегалія.

У крові: Нb – 90 г / л, еритроцити – $2,3 \times 10^{12}$ / л, ретикулоцити – 0,2%; КП – 1,2, макроцитоз; тільця Жоллі, кільця Кебота.

1. Про яке захворювання йде мова?
2. Що відіграє провідну роль в патогенезі даної хвороби?

Ситуаційна задача № 4. Чоловік 43 років проходить медичний огляд. Об'єктивно: блідість шкіри і слизових оболонок, згладженість сосочків язика, поперечна смугастість нігтів, тріщини в куточках рота, тахікардія.

Вміст гемоглобіну в крові – 90 г/л; анізоцитоз, пойкилоцитоз.

1. Недостатнє надходження якого мікроелементу в організмі є найбільш імовірним причинним фактором даної хвороби?

2. Як зветься ця хвороба?

Ситуаційна задача № 5. Хворий 20 років поступив в хірургічне відділення зі скаргами на кровотечу з різаної рани на правому передпліччі, яке триває протягом 1,5 доби. Турбують загальна слабкість, запаморочення, холодний піт, мерехтіння "мушок" перед очима. Шкіра та видимі слизові оболонки бліді. Пульс – 110 уд/хв, АТ – 100/70 мм рт. ст.

У крові: Нв – 100 г/л, еритроцити – $2,5 \times 10^{12}$ / л.

1. Чим обумовлений загальний стан хворого?

2. Про яке захворювання йде мова?

Ситуаційна задача № 6. Хворий 18 років скаржиться на періодичну появу жовтушного забарвлення шкіри, млявість, тяжкість в лівому підребер'ї. Об'єктивно: лімфовузли не збільшені, печінка біля краю реберної дуги, селезінка – +3 см.

У крові: еритроцити – $2,7 \times 10^{12}$ /л, Нв – 84 г/л, КП – 0,96, ретикулоцити – 18%, еритрокаріоцити, мікросфероцити. Непрямий білірубін – 32 мкмоль/л. Вміст заліза в сироватці крові – 23,5 ммоль/л.

У сечі – гемосидерин.

1. Який найбільш ймовірний діагноз?

2. Що відіграє провідну роль в патогенезі даної хвороби?

Ситуаційна задача № 7. Студентка 20 років під час іспиту втратила свідомість. Росла в багатодітній родині, часто хворіла на гострі респіраторні захворювання. Об'єктивно: шкіра і слизові оболонки бліді, волосся посічені, нігті крихкі.

У крові: еритроцити – $2,7 \times 10^{12}$ /л, Нв – 75 г / л, КП – 0,7, лейкоцити – $3,2 \times 10^9$ /л, тромбоцити – 210×10^9 /л, ШОЕ – 30 мм/год. Залізо сироватки крові – 6 ммоль/л.

1. Який найбільш ймовірний діагноз?

2. Яка основна патогенетична ланка цього захворювання?

Ситуаційна задача № 8. Хворий 42 років скаржиться на біль у попереку, потемніння сечі, загальну слабкість, запаморочення, що виникли після лікування застуди аспірином і ампіциліном. Об'єктивно: блідий, склери субіктеричні. ЧСС – 98 уд/хв. Печінка – +2 см, селезінка – +3 см.

У крові: еритроцити – $2,6 \times 10^{12}$ /л, Нв – 60 г/л, КП – 0,9, лейкоцити – $9,4 \times 10^9$ /л, базофіли – 0,5%, еритроцити – 3%, паличкоядерні лейкоцити – 6%,

сегментоядерні лейкоцити – 58%, лімфоцити – 25%, моноцити – 7%, ШОЕ – 38 мм/год, ретикулоцити – 24%. Загальний білірубін – 38 ммоль/л.

1. Яке ускладнення виникло у хворого?
2. Яка причина розвитку цієї хвороби?

Ситуаційна задача № 9. Хлопчик 3-х років, родом з Ірану, поступив у стаціонар зі скаргами на слабкість, блідість, жовтушність шкіри, зниження апетиту.

Хлопчик від першої вагітності, що протікала без ускладнень, маса тіла при народженні 3750 г, зріст 52 см. До 7 місяців перебував на грудному вигодовуванні. Голову став тримати з 4,5 місяців, до року не ходив, перші зуби прорізалися в 8 місяців. З анамнезу батьків встановлено, що вони обидва мають анемію, а також анемією страждає дядько батька.

При огляді дитина млява, байдужа до навколишнього світу. Виражена блідість шкіри, іктеричність склер, голова має форму "баштового черепа", монголоїдний тип обличчя (широке запале перенісся, виступаючі виличні кістки), зуби рідко посаджені, виступають вперед. При дослідженні легень патології не виявлено, при дослідженні серця – нижній систолічний шум на верхівці.

Живіт збільшений в об'ємі, печінка виступає з-під краю реберної дуги на 3 см, селезінка – на 7 см.

В аналізі крові: еритроцити – $1,5 \times 10^{12}$ /л, гемоглобін – 36 г/л, колірний показник – 0,6, ретикулоцити – 16%, лейкоцити – 10×10^9 /л, еозинофіли – 3%, юні – 6%, паличкоядерні – 11%, сегментоядерні – 38%, моноцити – 2%, лімфоцити – 40%, ШОЕ – 40 мм/год, поцкілоцитоз +++, анізоцитоз +++. Мінімальна осмотична стійкість – 0,56% розчин NaCl, максимальна – 0,24% розчин NaCl.

1. Який найбільш ймовірний діагноз?
2. Яка основна патогенетична ланка цього захворювання?

Ситуаційна задача № 10. Дівчинка 3-х років поступила в стаціонар зі скаргами на блідість, жовтушність, різку слабкість, відчуття тяжкості в лівому підребер'ї.

Дівчинка від першої, нормально протікала вагітності і пологів, з 4 місяців відзначена періодично виникає жовтяниця різного ступеня вираженості, що не супроводжується зміною кольору сечі і калу. У матері в анамнезі також відзначаються епізоди жовтяниці. Раніше дівчинку не обстежували.

При огляді загальний стан важкий. Шкірні покриви інтенсивно жовтого забарвлення, склери іктеричність. Легкі і серце без патології. Печінка виступає з-під реберної дуги на 3 см, край рівний, гладкий. Селезінка виступає з-під реберної дуги на 7 см, щільна, болюча при пальпації. Сеча солом'яно-жовтого кольору. Стілець оформлений, коричневого кольору. Звертає на себе увагу гетерохромія райдужек, високе стояння ясен, вузькі зубні дуги.

Аналіз крові: еритроцити – $2,27 \times 10^{12}$ /л, гемоглобін – 67 г/л, лейкоцити – 8×10^9 /л, еозинофіли – 1%, паличкоядерні нейтрофіли – 1%, сегментоядерні

нейтрофіли – 40%, лімфоцити – 55%, моноцити – 3% , ШОЕ – 30 мм/год, ретикулоцити – 21%, мікросфероцитоз +++.

1. Який Ваш можливий діагноз?
2. Якими патологічними змінами супроводжується ця хвороба?

ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Які кількісні зміни з боку червоної крові (вміст еритроцитів і гемоглобіну) й еритроцитарних індексів (MCV, MCH, RDW) характерні для залізодефіцитної анемії?
2. Який тип кровотворення характерний для B₁₂- та фолієводефіцитної анемії?
3. За якими ознаками відрізняються залізодефіцитна анемія від B₁₂- і фолієводефіцитної анемії?
4. Охарактеризуйте морфологічні зміни еритроцитів при апластичній анемії.

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Абдулкадыров К. М. Клиническая гематология: справочник. Санкт-Петербург : Питер, 2006. 448с.
2. Анемии. Краткое руководство / под ред. О. А. Рукавицына. Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2018. 176 с.
3. Воробель А. В. Основы гематологии : монографія. Івано-Франківськ : Вид-во «Плай» ЦІТ Прикарпатського університету імені Василя Стефаника, 2009. 148 с.
4. Гематология : посібник / за ред. А. Ф. Романової. Київ : Медицина, 2006. 456 с.
5. Гематология. Национальное руководство / под ред. О. Я. Рукавицына. Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2017. 784 с.
6. Гематология і трансфузіологія / під ред. С. М. Гайдукової. Київ : ВПЦ «Три крапки», 2001. 752 с.
7. Гематологические методы исследования. Клиническое значение показателей крови / В. Н. Блиндарь, Г. Н. Зубрихина, И. И. Матвеева, Н. Е. Кушлинский. Москва : МИА, 2013. 96 с.
8. Клінічна гематологія. Частина 1. Анемії: методичні вказівки для студентів і лікарів-інтернів / упоряд. Л. В. Журавльова, О. О. Янкевич. Харків : ХНМУ, 2015. 44 с.
9. Козловський Ю. К. Основы реологии крови // Biomedical and biosocial anthropology. 2015. № 24. P. 176-178.
10. Лабораторная гематология / С. А. Луговская, В. Т. Морозова, М. Е. Почтарь, В. В. Долгов. Москва : Триада, 2014. 218 с.
11. Фиясь А. Т., Ерш И. Р. Основы клинической гематологии. Минск: Вышэйшая школа, 2013. 271 с.
12. Шиффман Ф. Дж. Патофизиология крови / пер. с англ. Н. Б. Серебряной, В. И. Соловьева. Москва : Санкт-Петербург : Бином, 2016. 448 с.

ТЕМА 6. МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЛЕЙКОЦИТІВ

Мета: Знати загальну характеристику лейкоцитів. З'ясувати структурно-функціональні особливості гранулоцитів і агранулоцитів. Визначити загальну кількість лейкоцитів та еозинофілів у периферичній крові. Приготувати та пофарбувати мазки крові по Романовському-Гімза. Визначити лейкоцитарну формулу, лейкоцитарний профіль та індекс регенерації (ядерного зсуву).

ПИТАННЯ ДЛЯ ОБГОВОРЕННЯ

1. Загальна характеристика лейкоцитів.
2. Структурно-функціональні особливості гранулоцитів.
3. Структурно-функціональні особливості агранулоцитів.

Матеріали та обладнання: мікроскоп, лічильні камери Горяєва, меланжер для лейкоцитів, механічний лічильник для визначення лейкоцитарної формули, штатив, піпетки, піпетка від гемометра Салі, знежирені предметні скельця, шліфоване скло, скарифікатори, кювета з містками, пінцети анатомічні, штатив для висушування мазків на повітрі, банка або невисока скляночка для фіксації мазків, гумова груша, вата, 96% етиловий спирт, метиловий спирт, 4%-й розчин оцтової кислоти, підфарбований метиленовим синім, барвник Романовського-Гімзи, 1 % розчин еозину, ацетон, дистильована вода.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА

Завдання 1. Визначення кількості лейкоцитів у 1 мкл крові.

Принцип методу. Один з методів підрахунку лейкоцитів – це уніфікований метод підрахунку в лічильній камері. Підрахунок кількості лейкоцитів проводять під мікроскопом в певній кількості квадратів в лічильній камері і перераховують на 1 мкл крові, виходячи з обсягів квадратів і розведення крові.

Клінічне значення. Збільшення кількості лейкоцитів у крові – лейкоцитоз, зменшення – лейкопенія. Про наявність лейкоцитозу свідчить вміст лейкоцитів вище 9×10^9 /л крові, про лейкопенії – менше 4×10^9 /л. Лейкоцитоз і лейкопенія можуть мати абсолютний або відносний характер. Лейкоцитоз спостерігається при запальних процесах, бактеріальних інфекціях, інтоксикаціях, шоці, гострих крововтратах, коматозному стані, гемолітичному кризі, алергічних реакціях. Лейкопенія спостерігається при гіпотонічному стану, зниженні загального тону, голодуванні. Лейкопенія може бути наслідком пригнічуючої дії деяких токсинів на дозрівання і виселення

лейкоцитів з кровотворних органів, що спостерігається при деяких інфекційних захворюваннях – грипі, кору, черевному тифі, краснусі, інфекційному гепатиті. Лейкопенія може виникати в результаті дії лікарських засобів – антибіотиків, сульфаніламідів, цитостатичних препаратів.

Хід проведення. У пробірку внести 0,4 мл 4% розчину оцтової кислоти, підфарбованого метиленовим синім. Додати (піпеткою від гемометра Салі) 20 мкл крові і добре перемішати, при цьому одержати розведення крові у 20 разів. Заповнити камеру Горяєва, як це робили при підрахунку еритроцитів. Оскільки лейкоцитів менше, ніж еритроцитів, то для точності підрахунок проводити в 100 великих квадратах (які не розграфлені на малі), що відповідає 1600 малим квадратам. Для більшої точності підрахунок лейкоцитів проводити по всій сітці в великих квадратах, починаючи від верхнього кута сітки, за правилом Єгорова: до цього квадрату відносяться тільки ті клітини, які знаходяться всередині квадрата або на його верхній і лівій межі.

Розрахунок зробити за формулою:

$$L = \frac{A \times 4000 \times B}{B}, \quad (1)$$

де L – кількість лейкоцитів в 1 мкл крові; A – полічена кількість лейкоцитів; B – кількість малих квадратів, у яких підраховували лейкоцити; B – ступінь розведення крові; 4000 – множник для перерахунку кількості лейкоцитів на 1 мкл.

Приклад розрахунку: у 100 великих квадратах (1600 малих) підраховано 148 лейкоцитів, кров розведена у 20 разів.

Кількість лейкоцитів дорівнює: $\frac{148 \times 4000 \times 20}{1600} = 7400$ в 1 мкл.

Оформити протокол дослідю. Записати отримані значення кількості лейкоцитів у 1 мкл крові. Зробити висновки.

Завдання 2. Визначення кількості еозинофілів у 1 мкл крові.

Хід проведення. У меланжер для підрахунку лейкоцитів (рис. 1) набрати периферичну кров до позначки 1 та розбавити до позначки 11 розчином наступного складу: 2,5 мл 1 % розчину еозину; 2,5 мл ацетону, 50 мл дистильованої води. Розчин перед застосуванням профільтрувати.

Вміст меланжера обережно перемішати протягом 3 хв (при сильному струшуванні еозинофіли руйнуються). Перші дві краплі з меланжера зняти ватним тампоном, а третю нанести на сітку камери Горяєва і під мікроскопом з об'єктивом 15 підрахувати кількість еозинофілів (на двох сітках).

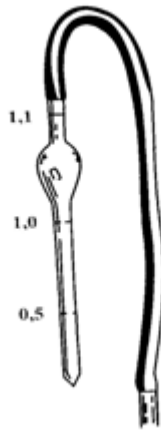


Рисунок 1. Змішувач (меланжер) для підрахунку лейкоцитів.

Гранули еозинофільних гранулоцитів забарвлюються в чорний колір, цитоплазма – в рожевий. Знайдену цифру перемножте на 100 і поділіть на 18. У результаті отримаєте абсолютні цифри еозинофілів в 1 мкл. Для перерахування в одиниці СІ треба одержану кількість гранулоцитів перемножити на 10^6 (Г/л).

Оформити протокол досліду. Записати отримані значення кількості еозинофілів у 1 мкл крові. Зробити висновки.

Завдання 3. Приготування, фіксація та фарбування мазків крові.

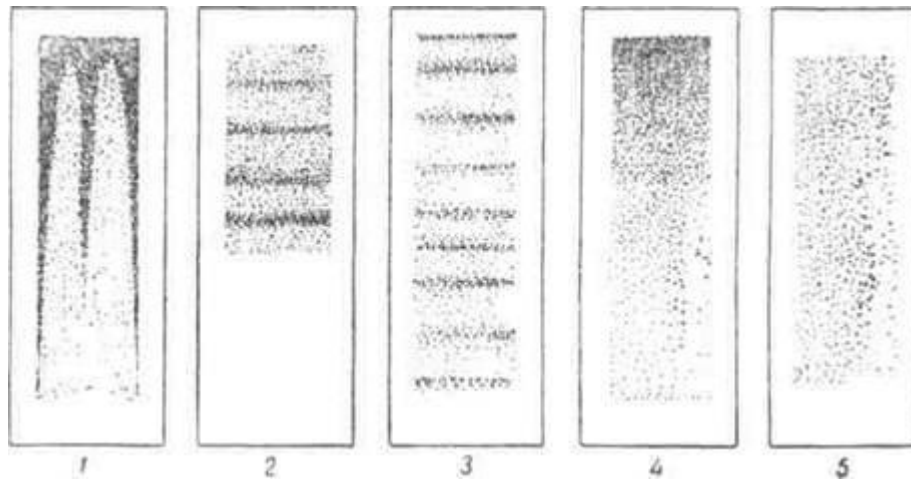
Вимоги до мазків крові:

1. Повинен розпочинатися на 1 см від початку предметного скла і закінчуватися на відстані 2-3 см від його протилежного краю, загальна довжина мазка повинна охоплювати $\frac{1}{2} - \frac{3}{4}$ довжини скла.

2. Бути рівномірної товщини, а не хвилеподібної, гарний мазок більш щільний спочатку, потім поступово щільність зменшується та закінчується у вигляді сліду.

3. Шар крові не повинен досягати краю скла на декілька мм.

Мазки, які перевищують $\frac{3}{4}$ довжини предметного скла, бувають дуже товстими; в них еритроцити лежать густим шаром, притиснені один до одного, утворюють монетні стовпчики, що заважає вивченню їх морфології. Мазки менш $\frac{1}{2}$ предметного скла занадто тонкі: лейкоцити зустрічаються дуже рідко та деформовані. Коли відсутній вільний від мазка край предметного скла, то більша кількість клітин переміщуються до краю мазка, розподіляючись у ньому нерівномірно. У хвилеподібному мазку розподіл клітин також нерівномірний: товсті ділянки мають більш лімфоцитів, тонкі – моноцитів і сегментоядерних клітин (рис. 2).



1 – мазок на погано знежиреному склі; 2 – дуже короткий мазок; 3 – занадто довгий нерівномірний мазок; 4 – занадто товстий мазок; 5 – правильний мазок, тонкий, рівномірний і досить довгий.

Рисунок 2. Правильно і неправильно приготовані мазки крові.

Хід проведення. Техніка приготування мазка крові:

1. Гарно знежирити та промити предметне скло: занурити його у розчин хромпіку (суміш $K_2Cr_2O_7$ + міцна H_2SO_4) на 24 години, потім промити під проточною водою, протерти насухо та помістити в банку з сумішшю спирт-ефір. Перед використанням висушити.

2. До краплини крові доторкнутися предметним склом так, щоб воно не торкалось пальця. Крапля крові переходить на скло, вона повинна бути діаметром 2-5 мм. Шліфоване скло тримати під кутом 45° на відстані 1-2 мм перед краплиною, утримуючи його великим та вказівним пальцями правої руки. Шліфоване скло зсунути назад так, щоб воно доторкнулось краплі крові і та розпливлася у куті між шліфованим і предметним склом. Швидким рухом руки зробити рух уперед. Шліфоване скло повинно бути вужче, ніж предметне; коли їх ширина однакова, то у шліфованого скла відламати кути, зменшуючи на 1-2 мм (рис. 3).

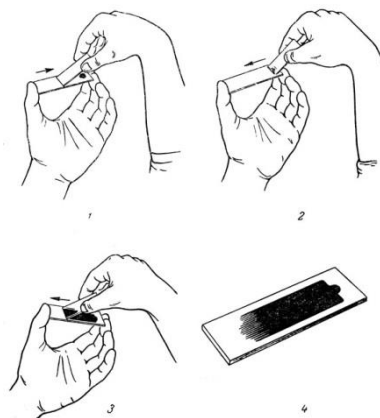


Рисунок 3. Етапи приготування мазка крові.

Мазки підсушити, зафіксувати за допомогою метилового спирту (3-5 хв) чи етилового спирту (абсолютного – 10-15 хв, 96% – 30 хв). Більш високі результати одержують при фіксуванні метиловим спиртом. Фіксуючу рідину наливають на скло, або скло занурюють у банку з фіксатором.

Після фіксації та підсушування виконати фарбування за методом Романовського-Гімзи. У лабораторіях завжди є готовий розчин цього барвника. Барвник Романовського-Гімзи складається з лужної (азур II) та кислій (еозин) часток. Азур її забарвлює структури клітин у яскраво-синій колір, а еозин у рожево-червоний. Лужні частини клітин зв'язуються та фарбуються кислими барвниками, а кислі – лужними.

Робочий розчин барвника отримати розведенням готового розчину дистильованої води. Вода повинна мати нейтральний рівень рН. Реакцію води визначити гематоксиліною пробою. У 4-5 мл води кинути крупинку гематоксиліну. Якщо вода має лужну реакцію, то фарбується не пізніше 3-й хв, якщо фарбування починається через 5 хв, або зовсім не відбувається, це вказує на кислу реакцію води. Якщо вода забарвлюється у рожево-фіолетовий колір через 1-4 хв, тоді вона нейтральна і придатна до споживання.

Робочий розчин барвника приготувати перед фарбуванням. Препарат розташувати мазком униз на 2 скляні палички, покладені на дно чашки Петрі. Барвник підливати під препарат, фарбувати 20-40 хв. Потім мазок промити під струмом води, висушити та мікроскопіювати під масляною імерсією. При фарбуванні за цим методом еритроцити забарвлюються у блідо-рожевий колір, ядра клітин – у синьо-фіолетовий, гранули еозинофілів – у яскраво-червоний, базофілів – у синій, цитоплазма лімфоцитів та моноцитів – у блакитний колір.

Завдання 4. Визначення лейкоцитарної формули.

Хід проведення. Приготувати до роботи світловий мікроскоп. Розглянути мазок при малому збільшенні, потім нанести краплю імерсійного масла, встановити велике збільшення (окуляр – $\times 7$ або $\times 10$, об'єтив – $\times 90$) і підрахувати 100 або 200 лейкоцитів, диференціюючи кількість їх за видами за допомогою 11-клавійного лічильника (рис. 4).

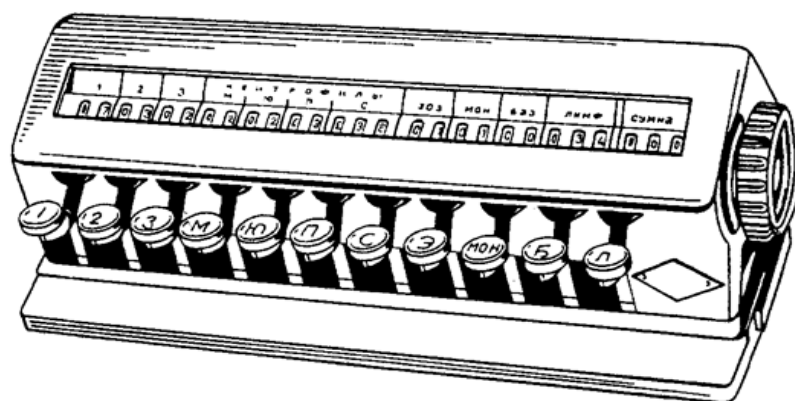


Рисунок 4. Механічний лічильник для визначення лейкоцитарної формули.

Підрахувати лейкоцити на мазку способом меандрів у чотирьох умовних зонах, розділених поперечної і поздовжньої осьовими лініями, візуально проведеними через центр мазка (рис. 5). У кожній зоні треба порахувати 25% клітин від необхідної кількості (100 або 200).

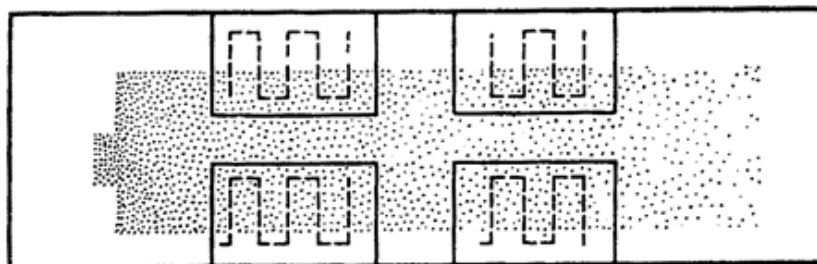


Рис. 5. Підрахунок лейкоцитів способом меандрів у чотирьох умовних зонах крові.

Підрахунок на мазку провести наступним чином: підрахувати лейкоцити у 3-4 полях зору вздовж краю мазка, потім у 3-4 полях зору в напрямку до середини мазка; потім підрахувати в 3-4 полях зору паралельно краю мазка і знов повернутися до краю. Такий рух продовжувати доти, доки не будуть підраховані 50 клітин. Тоді на протилежному краю мазка так само підрахувати ще 50 клітин (до суми 100 або 200 клітин). Підрахунок краще робити в найтоншому місці мазка, ближче до кінця, де добре видно структуру клітин.

Нормальні показники лейкоцитарної формули: нейтрофіли – 46-76%; еозинофіли – 1-5%; базофіли – 0-1%; моноцити – 2-10%; лімфоцити – 18-40%.

Оформити протокол дослідження. Записати отримані показники лейкоцитарної формули та порівняти їх з табличними даними. Зробити висновки.

Завдання 5. Визначення лейкоцитарного профілю та індексу регенерації (ядерного зсуву).

Хід проведення. Підрахувавши кількість лейкоцитів в 1 мкл крові та знаючи процентне співвідношення елементів білої крові (лейкоцитарна формула), обчислити їх абсолютну кількість у заданому об'ємі (лейкоцитарний профіль).

Формула 2 призначена для переведення відносних показників (тобто %) лейкоцитарної формули в абсолютні:

$$\text{Абсолютне значення} = \frac{\%}{100} \times L, \quad (2)$$

де L – кількість лейкоцитів в одиниці об'єму крові (у мкл або л).

Визначення індексу регенерації (ядерного зсуву). Цей показник являє собою відношення суми молодих форм нейтрофілів до зрілих.

Обчислити індекс регенерації за формулою 3:

$$\text{Індекс регенерації} = \frac{\% \text{ М} + \% \text{ Ю} + \% \text{ П}}{\% \text{ С}} \quad (3)$$

У нормі він дорівнює 0,065. За індексом регенерації можна судити про віковий склад нейтрофілів. Збільшення цього показника свідчить про активацію мієлопоезу, зниження – про його пригнічення.

Оформити протокол досліджу. Записати отримані показники індексу регенерації та порівняти їх з табличними даними. Зробити висновки.

ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Чому для підрахунку лейкоцитів кров розводять 4 % розчином оцтової кислоти. Для чого цей розчин підфарбовують метиленовим синім?
2. Як практично можна визначити загальну кількість лейкоцитів у крові?
3. Які вимоги висуваються до приготвлених мазків?
4. Яке клінічне значення лейкоцитарного профілю та індексу регенерації (ядерного зсуву)?

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Абдулкадыров К. М. Клиническая гематология: справочник. Санкт-Петербург : Питер, 2006. 448 с.
2. Воробель А. В. Основы гематологии : монографія. Івано-Франківськ : Вид-во «Плай» ЦІТ Прикарпатського університету імені Василя Стефаника, 2009. 148 с.
3. Гематология : посібник / за ред. А. Ф. Романової. Київ : Медицина, 2006. 456 с.
4. Гематология. Национальное руководство / под ред. О. Я. Рукавицына. Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2017. 784 с.
5. Гематология і трансфузіологія / під ред. С. М. Гайдукової. Київ : ВПЦ «Три крапки», 2001. 752 с.
6. Гематологические методы исследования. Клиническое значение показателей крови / В. Н. Блиндарь, Г. Н. Зубрихина, И. И. Матвеева, Н. Е. Кушлинский. Москва : МИА, 2013. 96 с.
7. Лабораторная гематология / С. А. Луговская, В. Т. Морозова, М. Е. Почтарь, В. В. Долгов. Москва : Триада, 2014. 218 с.
8. Фиясь А. Т., Ерш И. Р. Основы клинической гематологии. Минск: Вышэйшая школа, 2013. 271 с.
9. Шиффман Ф. Дж. Патофизиология крови / пер. с англ. Н. Б. Серебряной, В. И. Соловьева. Москва : Санкт-Петербург : Бином, 2016. 448 с.

ТЕМА 7. ЛЕЙКОЦИТОЗИ, ЛЕЙКОПЕНІЇ ТА ЛЕЙКОЗИ

Мета: Вивчити зміни якісного та кількісного складу лейкоцитів. Ознайомитися з клінічною оцінкою порушень у системі лейкоцитів. Знати етіологію, класифікацію, характеристику різних видів лейкозів і вміти їх диференціювати.

ПИТАННЯ ДЛЯ ОБГОВОРЕННЯ

1. Зміни якісного та кількісного складу лейкоцитів.
2. Лейкози: етіологія, класифікація, характеристика видів.
3. Лейкемоїдні реакції.

Матеріали та обладнання: мікроскоп, імерсійна олія, мазки периферичної крові та кісткового мозку хворих на різні види лейкозів.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА

Завдання 1. Використовуючи матеріал підручника та інших джерел, заповнити таблицю.

Таблиця 1 – Види лейкоцитозів і лейкопеній

Характер змін лейкоцитарної формули (в абсолютних цифрах)	Стани, які найбільш часто зустрічаються, та для яких характерна дана зміна лейкоцитарної формули
Нейтрофілія (нейтрофільний лейкоцитоз)	
Нейтропенія	
Еозинофілія	
Еозинопенія або анеозинофілія	
Лімфоцитоз	
Лімфопенія	

Моноцитоз	
Моноцитопенія	
Агранулоцитоз	

Таблиця 2 – Характеристика зсувів лейкоцитарної формули

Тип зсуву лейкоцитарної формули	Лейкоцитоз (-пенія)	Абс. нейтрофілія (-пенія)	% п	% ю	Поява мієлоцитів, промієлоцитів, мієлобластів	ІЯЗ	Дегенеративні форми лейкоцитів (+/-)

Завдання 2. Вивчення картини крові на мазках крові хворих на мієло- і лімфолейкоз.

Взяти готові мазки периферичної крові хворих на мієло- і лімфолейкоз. Вивчити картину крові під мікроскопом і зробити висновки про те, які форми лейкоцитів переважають у кожному мазку; охарактеризувати їх. Підрахувати та записати лейкоцитарну формулу. Замалювати у вигляді поля зору мікроскопа картину крові у хворих при гемобластозах.

Зробити висновки про особливості картини крові кісткового мозку хворих на різні види лейкозу.

Завдання 3. Вивчення мазків кісткового мозку хворих на різні види лейкозу.

Взяти готові мазки кісткового мозку хворих на різні види лейкозу. Вивчити картину крові під мікроскопом. Звернути увагу на молоді та зрілі форми лейкоцитів, дегенеративні зміни клітин крові. Замалювати у вигляді

поля зору мікроскопа картину кісткового мозку у хворих при гемобластозах. Зробити висновки про особливості картини крові кісткового мозку хворих на різні види лейкозу.

Завдання 4. Використовуючи матеріал підручника та інших джерел, заповнити таблицю.

Таблиця 3 – Порівняльна характеристика картини крові при гострому та хронічному мієлолейкозі (в розгорнутій стадії)

Вид мієлолейкозу	Наявність (1) і (або) переважання (2) баластних клітин	Наявність усіх дозріваючих клітин V-класу (+/-)	Лейкемічний провал (+/-)	Еозинофільно-базофільна асоціація (+/-)	Ph-хромосома в клітинах мієлоїдного ряду (+/-)	Панцитопенія (+/-)
Гострий						
Хронічний						

Завдання 5. Розв'язування ситуаційних задач.

Ситуаційна задача № 1. Хвора 27 років з дитячого віку страждає на броніальну астму. Під час чергового нападу була госпіталізована. При дослідженні крові отримані наступні результати: лейкоцити – 7×10^9 /л, лейкоцитарна формула:

нейтрофіли – 55% (п. – 4%, с. – 51%), е. – 18%, лімф. – 22%, мон. – 5%.

1. Чи є еозинофілія підтвердженням бронхіальної астми та чому?
2. Характерний чи лейкоцитоз для неускладненої бронхіальної астми?

Ситуаційна задача № 2. Хворий 25 років знаходиться в клініці з діагнозом: затяжний септичний ендокардит.

Аналіз крові: Нв – 120 г/л, еритроцити – $3,6 \times 10^{12}$ /л, лейкоцити – $3,8 \times 10^9$ /л, е. – 0%, п. – 1%, с. – 43%, лимф. – 42%, мон. – 14%, ШОЕ – 20 мм на годину.

1. Якого характеру лімфо-і моноцитоз має місце в даному випадку?
2. Чи досягає лейкопенія при даному захворюванні важкого ступеня вираженості (наприклад 1000 в 1 мкл і нижче)?

Ситуаційна задача № 3. Хворий 15 років поступив в підліткове відділення з типовою картиною інфекційного мононуклеозу. Аналіз крові: лейкоцити – $5,4 \times 10^9$ /л, п. – 3%, с. – 12,5%, е. – 17%, лімф. – 60%, мон. – 6,5%, плазматичні клітини – 4:200. У мазку, пофарбованому по Нохта, серед лімфоцитів зустрічаються дрібні лімфоїдні клітини з веретеноподібною цитоплазмою, багато клітин з ядрами моноцитарної структури з 1-2 нуклеолами та базофільною васкуолярізованою цитоплазмою.

1. Що більш характерно для інфекційного мононуклеозу?
2. Якого характеру лимфоцитоз у даного хворого, відносний або абсолютний лімфолейкоз у даного пацієнта?

Ситуаційна задача № 4. Хворий 16 років, учень 9-го класу, вступив у підліткове відділення для обстеження зі скаргами на болі в горлі при ковтанні, кровоточивість ясен, лихоманку, озноб.

Протягом місяця надходження відзначав нездужання, швидку стомлюваність, 1,5 тижні тому з'явилися болі в горлі при ковтанні, температура до $38,5-39^\circ\text{C}$, озноб.

При надходженні: шкірні покриви і видимі слизові оболонки бліді. На шкірі тулуба, слизовій оболонці рота і м'якого піднебіння точкові геморагічні висипання, на мигдалинах некротичні нальоти, виражені явища гінгівіту. Пальпуються шийні і надключичні лімфатичні вузли величиною з квасоля, не спаяні з навколишніми тканинами і шкірою, безболісні. З боку серця, легенів без патології. Печінка виступає з-під краю реберної дуги на 2 см, при пальпації щільна, малоболуча. Селезінка не пальпується. Довжина 13 см.

Аналіз крові: Нв – 78 г/л, еритроцити – $2,52 \times 10^{12}$ /л, кольоровий показник – 0,96, л. – $22,98 \times 10^9$ /л, б. – 0%, е. – 0%, п. – 1%, с. – 0,5%, лімф. – 3%, бластні клітини – 95,5%, нормобласти – 3:100, ретикулоцити – 1,3%, тромбоцити – 18×10^9 /л, ШОЕ – 60 мм на годину.

Мієлограма: кістковий мозок багатий на клітинні елементи, бластні клітини складають 94,7%, мієлоцити – 0,2%, метамієлоцити – 0,2%, п. – 0,2%, с. – 1,8%, лімф. – 1%, еритроцитарний паросток – 1,2%, плазматичні клітини – 0,5%, мегакаріоцити – поодинокі.

1. Який цитологічний варіант гострого лейкозу є в даному випадку?
2. Чим він характеризується?

Ситуаційна задача № 5. Хворий 50 років, фотограф, надійшов до терапевтичного відділення зі скаргами на збільшення лімфатичних вузлів шиї, яке став відзначати протягом останнього місяця.

Об'єктивно: шкірні покриви звичайного забарвлення. Пальпуються збільшені шийні і підщелепні лімфовузли величиною з квасоля і лісовий горіх, тістовато-еластичної консистенції, рухливі, не спаяні між собою і оточуючими тканинами, безболісні. З боку органів опасистої клітини без особливостей. Печінка не збільшена. Чітко пальпується нижній полюс селезінки (довжина – 16 см).

Аналіз крові: Нв – 123 г/л, еритроцити – $4,1 \times 10^{12}$ /л, кол. пок. – 0,9,

лейкоцити – $5,1 \times 10^9$ /л, е. – 0,5%, п. – 1%, с. – 24,5%, мон. – 2%, лімф. – 72%, тромбоцити – $2,1 \times 10^9$ /л, ШОЕ – 17 мм на годину.

Серед лімфоцитів периферичної крові переважає малі узкоцітоплазменные форми (майже голі ядра), виявляються у великій кількості тині Боткіна-Гумплекта. Пролімфоцити складають 1,5%.

Мієлограма: кістковий мозок багатий на клітинні елементи. Недиференційованих бластних клітин – 2,4%, гранулоцитів – 36,4%, еритрономобластів – 7,4%, лімф. – 53,8% (лімфобластів – 2,5%, пролімфоцити – 4,2%, інші – зрілі форми). Мегакаріоцити в достатній кількості, багато з нормальним відшнуванням.

1. Про яке захворювання можна думати в даному випадку?
2. Чим воно характеризується?

ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Про що свідчить наявність регенеративного і гіперрегенеративного зсуву лейкоцитарної формули вліво?
2. Про що свідчить наявність дегенеративного зсуву лейкоцитарної формули вправо?
3. Який основний критерій використовується для поділу лейкозів на гострі та хронічні?
4. За якими ознаками відрізняється мієлолейкоз від лімфолейкозу?

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Абдулкадыров К. М. Клиническая гематология: справочник. Санкт-Петербург : Питер, 2006. 448 с.
 2. Бейн Б. Дж., Матутес Э. Хронические миелоидные лейкозы / пер. с англ. С. В. Кузнецова; под ред. А. Г. Туркиной. Москва : Гранат, 2014. 64 с.
 3. Воробель А. В. Основы гематологии : монографія. Івано-Франківськ : Вид-во «Плай» ЦІТ Прикарпатського університету імені Василя Стефаника, 2009. 148 с.
 4. Гематология : посібник / за ред. А. Ф. Романової. Київ : Медицина, 2006. 456 с.
 5. Гематология. Национальное руководство / под ред. О. Я. Рукавицына. Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2017. 784 с.
 6. Гематологические методы исследования. Клиническое значение показателей крови / В. Н. Блиндарь, Г. Н. Зубрихина, И. И. Матвеева, Н. Е. Кушлинский. Москва : МИА, 2013. 96 с.
 7. Лабораторная гематология / С. А. Луговская, В. Т. Морозова, М. Е. Почтарь, В. В. Долгов. Москва : Триада, 2014. 218 с.
 8. Фиясь А. Т., Ерш И. Р. Основы клинической гематологии. Минск : Вышэйшая школа, 2013. 271 с.
- Шиффман Ф. Дж. Патологическая физиология крови / пер. с англ. Н. Б. Серебряной, В. И. Соловьева. Москва : Санкт-Петербург : Бином, 2016. 448 с/

ТЕМА 8. СУДИННО-ТРОМБОЦИТАРНИЙ ГЕМОСТАЗ

Мета: Знати структурно-функціональну характеристику тромбоцитів. Визначити кількість тромбоцитів у лічильній камері та мазку крові. Провести манжеточну пробу (пробу з джгутом) Кончаловського-Румпеля-Лесде. Встановити час кровотечі.

ПИТАННЯ ДЛЯ ОБГОВОРЕННЯ

1. Структурно-функціональна характеристика тромбоцитів.
2. Судинно-тромбоцитарний механізм гемостазу.

Матеріали та обладнання: мікроскоп, лічильна камера Горяєва, манжета від апарату для вимірювання артеріального тиску, секундомір, лейкоцитарний меланжер, штатив, мікропіпетки, піпетки, пробірки, гумова груша, предметні скельця, скарифікатори, вологі камери (чашки Петрі з вологим фільтрувальним папером), вата; цитратна або свіжа кров; 96% етиловий спирт, суміш Никифорова (1:1етилового спирту та етилового ефіру), 1% розчину трилону Б, 1% розчин оксалату амонію, 14% розчин сульфату магнію, 0,5% розчин генціанвіолету, імерсійна олія.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА

Завдання 1. Визначення кількості тромбоцитів у камері Горяєва за модифікованим методом Хауке.

За допомогою мікропіпетки набрати 0,1 мл 1% розчину трилону Б і 0,1 мл крові і швидко перенести в пробірку. Для підрахунку набрати кров з пробірки у лейкоцитарний меланжер (змішувач) до мітки I, потім набрати 1% розчин оксалату амонію до мітки II. Рідини змішати та меланжер залишити на 20 хв для гемолізу еритроцитів. Після цього добре перемішати вміст змішувача протягом 2-3 хв, перші краплі випустити і зарядити лічильну камеру. Так як тромбоцити осідають повільно, камеру поставити на 10 хв у чашку Петрі з мокрою ваткою на дні. Після цього підрахувати тромбоцити в п'яти великих (80 маленьких) квадратах.

Кількість тромбоцитів (X) у 1 л крові обчислити за формулою 1:

$$X = A \times 10^9, \quad (1)$$

де A – кількість тромбоцитів, підрахована в п'яти великих квадратах.

Оформити протокол досліду. Записати результати підрахунку кількості тромбоцитів у лічильній камері. Порівняти отримані значення з нормальними показниками та зробити висновок.

Завдання 2. Визначення кількості тромбоцитів у периферичній крові за методом Фоніо.

Принцип методу. Заснований на запобіганні склеювання тромбоцитів додаванням до крові розчину сульфату магнію і підрахунку їх в пофарбованому мазку.

Хід проведення. Отримати кров у людини з кінчика пальця. Отриману краплю крові змішати з краплею 14 % розчину сульфату магнію (нанести попередньо) на предметне скло.

Із отриманої краплі приготувати мазок, висушити, зафіксувати сумішшю Никифорова (5 хв) і забарвити 0,5 % розчином генціанвіолету протягом 10-12 хв.

Під імерсійним об'єктивом мікроскопа підрахувати 1000 еритроцитів і всі тромбоцити, які при цьому зустрічаються.

Вміст тромбоцитів X (Г/л) розрахувати за формулою:

$$X = E_p \times a, \quad (2)$$

де E_p – вміст еритроцитів у крові (Т/л),

a – знайдена кількість тромбоцитів.

Оформити протокол дослідження. Записати отримані значення кількості тромбоцитів у крові. Зробити висновки.

Завдання 3. Охарактеризувати тромбоцитарні індекси (PLT, MPV, PCT, PDW).

Завдання 4. Проведення манжеточної проби (проби з джгутом) Кончаловського-Румпеля-Леєде.

Клінічне значення. Манжеточна проба позитивна при тромбоцитопеніях, при дисфункції тромбоцитів, спадкових і набутих.

Хід проведення. На внутрішню поверхню верхньої третини передпліччя окреслити коло діаметром 5 см, після чого манжетою від апарату для вимірювання артеріального тиску стиснути плече протягом 5 хв при тиску 90-100 мм рт. ст. Через 5 хв після зняття манжети підрахувати число петехій в окресленому колі (норма – до 10 петехій, слабкопозитивна проба – 11-20 петехій, позитивна – 21-30 петехій, різко позитивна – більше 30).

Оформити протокол дослідження. Записати отримані результати проведення значення манжеточної проби. Зробити висновки.

Завдання 5. Визначення часу кровотечі.

Принцип методу. Метод дозволяє визначити стан судин після взаємодії тромбоцитів і судинної стінки. Час кровотечі визначається модифікованим методом Айві.

Клінічне значення. Прогресивне збільшення часу кровотечі спостерігається при зниженні числа тромбоцитів, при первинному порушенні судинної стінки, при якісних порушеннях тромбоцитів, при хворобі Віллебранда.

Хід проведення. Після накладення манжетки на верхню частину плеча і створення в ній тиску 40 мм рт. ст. зробити розріз на шкірі згинальної поверхні передпліччя розміром 1×9 мм за допомогою одноразової матриці. Час кровотечі – час, необхідний для зупинки кровотечі, в нормі становить 3-8,5 хв.

Оформити протокол досліджу. Записати отримані результати визначення часу кровотечі. Зробити висновки.

ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Як практично можна визначити кількість тромбоцитів у камері Горяєва за модифікованим методом Хауке?
2. У чому полягає сутність методу Фоліо по визначенню кількості тромбоцитів у периферичній крові?
3. Як оцінити результати проведення манжеточної проби Кончаловського-Румпеля-Леєде?
4. Назвіть фактори, що призводять до збільшення часу кровотечі.

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Богданов А. Н., Волошин С. В., Кулибаба. Т. Г. Изменения в системе крови в клинической практике. Москва : Фолиант, 2017. 172 с.
2. Воробель А. В. Основы гематологии : монографія. Івано-Франківськ : Вид-во «Плай» ЦІТ Прикарпатського університету імені Василя Стефаника, 2009. 148 с.
3. Гематология. Национальное руководство / под ред. О. Я. Рукавицына. Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2017. 784 с.
4. Дуткевич И. Г., Сухомлина Е. Н., Селиванов Е. А. Практическое руководство по клинической гемостазиологии (физиология системы гемостаза, геморрагические диатезы, тромбофилии). Москва : Фолиант, 2014. 272 с.
5. Лабораторная диагностика системы гемостаза / А. А. Козлов, Л. В. Натрус, П. А. Черновол [и др.]. Москва : Литтерра, 2011. 136 с.
6. Синьков С. В., Заболотских И. Б. Диагностика и коррекция расстройств в системе гемостаза. Москва : Практическая медицина, 2017. 336 с.
7. Физиология и патология гемостаза / под ред. Н. И. Стуклова. Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2016. 112 с.

ТЕМА 9. КОАГУЛЯЦІЙНИЙ ГЕМОСТАЗ І ФІБРИНОЛІЗ

Мета: Знати коагуляційний механізм гемостазу. Засвоїти механізми антикоагуляції і фібринолізу. Вивчити види порушень в системі гемостазу. Визначити тривалість кровотечі, швидкість зсідання крові та час рекальцинації плазми крові. Ознайомитися з принципом визначення фібриногену В.

ПИТАННЯ ДЛЯ ОБГОВОРЕННЯ

1. Коагуляційний механізм гемостазу.
2. Антикоагуляційні механізми.
3. Фібриноліз.
4. Порушення зсідання крові: етіологія, патогенез, прояви коагулопатії, гіпо- та гіперкоагуляції.

Матеріали та обладнання: водяна баня, водяний термометр, секундомір, термостійкий скляний посуд, штатив, піпетки, капіляр Панченкова, запаяна пастерівська піпетка, аглютинаційні пробірки, хімічні пробірки, годинникове скло, чашка Петрі, гумова груша, фільтрувальний папір, предметні скельця, скарифікатори, вата; цитратна або свіжа кров; 96% етиловий спирт, 50% спирт, 5% розчин хлориду кальцію, 10% розчин хлориду натрію, 2% розчин β -нафтолу.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА

Завдання 1. Визначення тривалості кровотечі (уколучна проба Дукє).

Клінічне значення. Час кровотечі збільшується при тромбоцитопенічних станах, захворюваннях печінки, отруєннях фосфором і хлором. При гемофільії час кровотечі нормальний.

Хід проведення. При уколї кінчика пальця або мочки вуха голкою на глибину 3-4 мм краплю крові, що самостійно виступила, знімати фільтрувальним папером кожні 30 с. Тривалість кровотечі в нормі не перевищує 4 хв.

Оформити протокол досліду. Записати результати визначення тривалості кровотечі. Зробити висновки.

Завдання 2. Визначення швидкості зсідання крові методом Сухарева.

Хід проведення. Кров для дослідження взяти з пальця після видалення першої краплі. У сухий капіляр для визначення швидкості осідання еритроцитів або скляну трубку діаметром 1,5-2,5 мм набрати стовпчик крові висотою

25-30 мм. Кров нахилом капіляра переводять на середину трубки. Тримаючи капіляр двома пальцями, покачати його на 30-45° в обидва боки. Вільне зміщення крові свідчить, що зсідання крові ще не настало. Початок зсідання крові характеризується уповільненням руху крові при нахилі капіляра, на внутрішній стінці капіляра з'являються невеликі згустки. Повне зсідання крові відповідає моменту повної зупинки руху крові. У нормі початок зсідання крові настає в період від 30 с до 2 хв, кінець – від 3 до 5 хв.

Оформити протокол дослідження. Записати результати визначення швидкості зсідання крові. Зробити висновки.

Завдання 3. Визначення швидкості зсідання крові методом Фоніо.

Хід проведення. Приготувати вологу камеру. Для цього в чашку Петрі покласти марлю, змочену водою. Кров для дослідження взяти в кількості 10 крапель на годинникове скло, що помістити у вологу камеру. Кінцем запаяної пастерівської піпетки провести по поверхні крові. Поява перших ниток фібрину вважати початок зсідання, утворення згустку – кінцем зсідання. У нормі початок зсідання крові спостерігається через 5-8 хв, кінець – через 15-18 хв.

Оформити протокол дослідження. Записати результати визначення швидкості зсідання крові. Зробити висновки.

Завдання 4. Визначення часу рекальцинації плазми крові.

Принцип методу. Час рекальцинації плазми (ЧРП), або кальцієвий час, – це тривалість зсідання плазми в присутності кальцію хлориду; характеризує зсідання крові в цілому. У нормі цей час коливається від 60 до 120 с.

Клінічне значення. Зменшення ЧРП свідчить про підвищення зсідання крові, а збільшення ЧРП – про його сповільнення. ЧРП може збільшуватись при гіпокоагуляції внаслідок недостатності вмісту прокоагулянтів чи підвищеного вмісту антикоагулянтів або зменшуватись при гіперкоагуляції через підвищене зсідання крові.

Дослід 1. У пробірку, що міститься на водяній бані або в склянці з водою (при температурі 37-38 °С), внести 0,1мл цитратної або свіжої крові, через 60 с додати 0,1 мл 5% розчину хлориду кальцію і водночас за секундоміром або секундною стрілкою годинника записати, через який час почав утворюватись згусток, тобто ЧРП.

Дослід 2. Дослідити кров тієї самої людини за аналогічною методикою, але замість 0,1 мл 5 % розчину хлориду кальцію додати в пробірку 0,1мл 10 % розчину хлориду натрію.

Оформити протокол дослідження. Записати отримані результати часу рекальцинації плазми крові. Зробити висновок про фактори, які спричиняють зсідання крові, та про наявність патології у обстеженої особи.

Завдання 5. Визначення фібриногену В за методом Каммайна і Лайонса (модифікація Балуди, Русанової, Токарева).

Принцип методу. Додавання до сироватці розчину β -нафтолу при наявності в ній фібриногену В призводить до випадання останнього у вигляді ниток, гранул або згустку.

Клінічне значення. Метод дозволяє досліджувати порушення фази утворення фібрину.

Хід проведення. У 2 аглютинаційні пробірки ввести по 1 мл плазми крові. У першу пробірку (контроль) додати 5 крапель 50% спирту, в другу пробірку (дослід) – 5 крапель 2% розчину β -нафтолу. Пробірки струсити та залишити стояти при кімнатній температурі 10 хв. Потім відзначити результат реакції. Слабопозитивна реакція відзначається при наявності ниток або дрібних пластівців, позитивна – при наявності грубих ниток фібрину; утворення згустку фіксується як різко позитивна реакція, відсутність частинок – негативна реакція.

Оформити протокол дослід. Записати результати визначення фібриногену В. Зробити висновки.

Завдання 6. Розв'язування ситуаційних задач.

Ситуаційна задача № 1. Хлопчик 5 років поступив у приймальне відділення з діагнозом ревматизм, виставленим дільничним лікарем. При надходженні дитина скаржилася на біль, збільшення обсягу та обмеження руху в правому колінному суглобі.

Дитина від другої вагітності з нормальним перебігом і других пологів. З раннього віку страждає носовими кровотечами, після легких травм відзначалися гематоми на тулубі та кінцівках. Батьки дитини та старша сестра здорові, у молодшого 2-річного брата також часті та тривалі носові кровотечі. При огляді стан середньої тяжкості. Зниженого харчування, блідий. На шкірі лівого плеча енхімоз до 6 см в діаметрі. Периферійні лімфовузли не збільшені. Дихання везикулярне, тони серця злегка приглушені, функціональний систолічний шум. Печінка і селезінка не збільшені. Стілець і сечовипускання не порушені. Правий колінний суглоб кулястої форми, руху в ньому обмежені і різко болючі. При пункції правого колінного суглоба отримана гемолізовані кров.

1. Про яке захворювання слід думати в першу чергу?
2. Що відіграє провідну роль в патогенезі даної хвороби?

Ситуаційна задача № 2. Дівчинка 4-х років звернулася до лікаря зі скаргами на болі в животі, гомілковостопному суглобі, крововиливи на тулубі, верхніх і нижніх до кінцівок.

Захворювання почалося гостро, через тиждень після перенесеного ГРВІ, гнійного отиту. В анамнезі раннє штучне вигодовування, харчова сенсibiliзація. Батьки здорові.

При огляді стан важкий, температура 38,3 ° С, дитина неспокійна. Шкіра блідо-рожева, на тулубі, кінцівках, навколо суглобів, сідницях дрібноточковий геморагічний висип.

У місцях тиску одягу геморагії придбали зливний характер. При фізикальному обстеженні легенів і серця змін не виявлено. Живіт м'який, безболісний, печінка і селезінка не збільшені, стілець, сечовипускання в нормі.

Аналіз крові: еритроцити – $3,7 \times 10^{12}/\text{л}$, гемоглобін – 112 г/л, кольоровий показник – 0,9, тромбоцити – $450 \times 10^9/\text{л}$, лейкоцити – $9,4 \times 10^9/\text{л}$, еозинофіли – 5%, паличкоядерні нейтрофіли – 6%, сегментоядерні нейтрофіли – 56%, лімфоцити – 26%, моноцити – 7%, ШОЕ – 22 мм/год.

1. Про яке захворювання слід думати в першу чергу?
2. Що відіграє провідну роль в патогенезі даної хвороби?

Ситуаційна задача № 3. Таня К., 3 роки, поступила зі скаргами на болі в животі та геморагічне висипання на руках, ногах, тулуб, сідницях.

Захворіла гостро з появою рясної плямистої висипки червоного кольору. Видимої причини захворювання батьки не відзначили, відомо тільки, що у дівчинки до цього був гнійний отит.

Дівчинка від третьої вагітності, народилася з масою 3250 г, росла і розвивалася нормально. Страждала ексудативним діатезом, рахітом, з надлишковою масою тіла.

Батьки здорові. Старші діти здорові. Стан важкий. На стопах, гомілках, стегнах, плечах і передпліччях геморагії різного ступеня давності. Дихання везикулярне, тони серця ритмічні, ясні, зів рожевий. Є каріозні зуби. Живіт м'який, визначається болючість при натисканні в області пупка. Печінка + 2 см нижче краю реберної дуги, селезінка не пальпується.

Аналіз крові: еритроцити – $4 \times 10^{12}/\text{л}$, Hb – 118 г/л, КП – 1,0, тромбоцити – $480 \times 10^9/\text{л}$, лейкоцити – $9,1 \times 10^9/\text{л}$, паличкоядерні нейтрофіли – 6%, сегментоядерні нейтрофіли – 61%, лейкоцити – 26%, моноцити – 7%, ШОЕ – 5 мм/час.

Час зсідання по Лі-Уайту – 3 хв. 30 сек, підвищена реакція згустку. Протромбіновий індекс – 1,2, гематокрит – 0,35, СРП+, протеїнограма: альбуміни – 41%, глобуліни: альфа 1 – 6,9%; альфа 2 – 12,0 %; бета – 13,8%, гама – 25,8%.

1. Про яке захворювання слід думати в першу чергу?
2. Що відіграє провідну роль в патогенезі даної хвороби?

ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Які фази коагуляційного гемостазу? Яка роль зовнішньої і внутрішньої системи зсідання крові?
2. Як утворюється фібрин? Яке значення фібринстабілізуючого фактора?
3. Як відбувається розчинення кров'яного згустку. Яке значення фібринолізу?

4. Нервово-гуморальна регуляція функціональної системи зсідання та антизсідання крові.

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Абдулкадыров К. М. Клиническая гематология: справочник. Санкт-Петербург : Питер, 2006. 448с.
2. Богданов А. Н., Волошин С. В., Кулибаба. Т. Г. Изменения в системе крови в клинической практике. Москва : Фолиант, 2017. 172 с.
3. Воробель А. В. Основи гематології : монографія. Івано-Франківськ : Вид-во «Плай» ЦІТ Прикарпатського університету імені Василя Стефаника, 2009. 148 с.
4. Гематологія : посібник / за ред. А. Ф. Романової. Київ : Медицина, 2006. 456 с.
5. Гематология. Национальное руководство / под ред. О. Я. Рукавицына. Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2017. 784 с.
6. Гематологія і трансфузіологія / під ред. С. М. Гайдукової. Київ : ВПЦ «Три крапки», 2001. 752 с.
7. Гематологические методы исследования. Клиническое значение показателей крови / В. Н. Блиндарь, Г. Н. Зубрихина, И. И. Матвеева, Н. Е. Кушлинский. Москва : МИА, 2013. 96 с.
8. Дуткевич И. Г., Сухомлина Е. Н., Селиванов Е. А. Практическое руководство по клинической гемостазиологии (физиология системы гемостаза, геморрагические диатезы, тромбофилии). Москва : Фолиант, 2014. 272 с.
9. Лабораторная гематология / С. А. Луговская, В. Т. Морозова, М. Е. Почтарь, В. В. Долгов. Москва : Триада, 2014. 218 с.
10. Лабораторная диагностика системы гемостаза / А. А. Козлов, Л. В. Натрус, П. А. Черновол [и др.]. Москва : Литтерра, 2011. 136 с.
11. Синьков С. В., Заболотских И. Б. Диагностика и коррекция расстройств в системе гемостаза. Москва : Практическая медицина, 2017. 336 с.
12. Физиология и патология гемостаза / под ред. Н. И. Стуклова. Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2016. 112 с.

ТЕМА 10. ГРУПИ КРОВІ

Мета: Знати системи антигенів еритроцитів. Визначити групу крові за системою АВ0 за допомогою стандартних сироваток крові та моноклональних тест-реагентів анти-А і анти-В. Виявити в досліджуваній крові наявність або відсутність Д антигену системи Резус за допомогою специфічної ізоімунної анти-Д сироватки, Цоліклона анти-Д і визначити її резус-приналежність. Вивчити умови та хід проведення проб по визначенню групової сумісності крові.

ПИТАННЯ ДЛЯ ОБГОВОРЕННЯ

1. Система АВ0.
2. Резус-фактор (Rh).
3. Інші системи антигенів еритроцитів.
4. Основи переливання крові.

Матеріали та обладнання: термостат, секундомір, спеціальні тарілки або планшети для визначення груп крові, скляні палички, штатив, піпетки, хімічні пробірки, гумова груша, скарифікатори, вата; плазма або сироватка крові; 96% етиловий спирт, стандартні сироватки I, II, III груп крові, Цоліклони анти-А, анти-В і анти-Д, специфічна ізоімунна анти-Д сироватка, фізіологічний розчин.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА

Завдання 1. Визначення групи крові людини за системою АВ0 за допомогою стандартних сироваток.

Принцип методу. Групи крові визначають за допомогою стандартних сироваток, що містять відомі аглютиніни.

Клінічне значення. Група крові встановлюється в залежності від наявності аглютинації.

1. Якщо аглютинації немає у всіх трьох краплях сироваток, це свідчить про відсутність аглютиногенів в еритроцитах досліджуваної крові, отже, ця кров належить до 0 (I) групи.

2. Якщо аглютинація відбулася з сироватками I і III груп, то еритроцити містять аглютиноген А, кров належить до А (II) групи.

3. Якщо аглютинація відбулася з сироватками I і II груп, то еритроцити містять аглютиноген В, кров належить до В (II) групи.

4. Якщо аглютинація відбулася з сироватками I, II, III груп, то еритроцити містять як аглютиноген А так і аглютиноген В, кров належить до АВ (IV) групи.

Хід проведення. Групу крові визначити на спеціальних тарілках або планшетах, які маркуються. Під позначенням сироваток помістити по одній краплі стандартних сироваток I, II, III груп крові (приблизно по 0,1 мл); піпетки для кожної сироватки строго індивідуалізовані. Потім палець проколоти скарифікатором (допускається брати кров з мочки вуха або з вени) і маленькі краплі крові (приблизно 0,01 мл; співвідношення кількості стандартної сироватки і крові повинно бути приблизно 10:1) перенести в краплі сироватки окремими скляними паличками. Перемішати кров з сироватками до рівномірного забарвлення, потім на 1-2 хв залишити та знову періодично помішати протягом 5 хв. Реакція може бути позитивною – наявність аглютинації, або негативною – відсутність аглютинації. При позитивній реакції у краплі сироватка повністю або майже повністю знебарвлюється, на цьому тлі розрізняються грудочки зі склеєних еритроцитів. При негативній реакції крапля зберігає рівномірний червоний колір без ознак аглютинації.

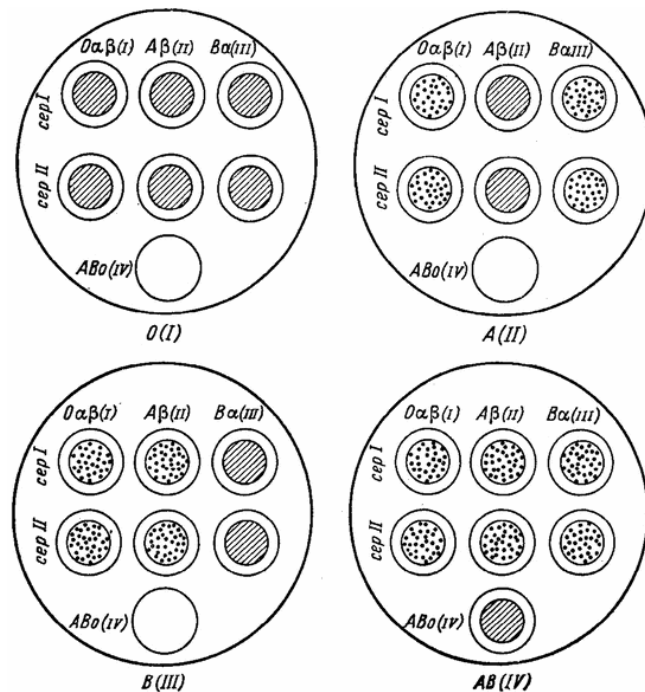


Рисунок 1. Результати визначення груп крові за системою АВ0 за допомогою стандартних сироваток.

Оформити протокол досліду. Записати результати визначення груп крові за системою АВ0 за допомогою стандартних сироваток. Зробити висновки.

Завдання 2. Визначення груп крові за системою АВ0 із застосуванням Цоліклонів анти-А і анти-В.

Принцип методу. Цоліклони анти-А і анти-В призначені для визначення групи крові людини за системою АВ0. Визначення групи крові включає виявлення антигенів А і В в еритроцитах. Цоліклони анти-А і анти-В містять

специфічні імуноглобуліни класу М, спрямовані проти групспецифічних антигенів А і В людини.

Клінічне значення. 1. Аглютинації немає (-) ні з реагентом анти-А, ні з реагентом анти-В. Значить досліджувані еритроцити не містять антигенів А і В і кров належить до групи О (I). Це підтверджується наявністю аглютининів у плазмі досліджуваної крові за результатами позитивної реакції аглютинації зі стандартними еритроцитами груп А (II) і В (III)

2. Аглютинація (+) спостерігається тільки з тест-реагентами анти-А. Отже, досліджувані еритроцити містять тільки антиген А і кров належить до групи А (II). Це підтверджується наявністю аглютининів β у досліджуваній (сироватці) плазмі за результатами позитивної реакції аглютинації зі стандартними еритроцитами групи В (III).

3. Аглютинація (+) спостерігається тільки з тест-реагентами анти-В. Отже, досліджувані еритроцити містять тільки антиген В і кров належить до групи В (III). Це підтверджується наявністю аглютининів α в досліджуваній плазмі за результатами позитивної реакції аглютинації зі стандартними еритроцитами групи А (II).

4. Аглютинація (+) спостерігається, як з тест-реагентом анти-А, так і з тест-реагентом анти-В. Отже, досліджувані еритроцити містять обидва антигени (А і В) і кров належить до групи АВ (IV). Це підтверджується відсутністю аглютининів α і β у досліджуваній плазмі за результатами реакції аглютинації зі стандартними еритроцитами груп А (II) і В (III).

У разі позитивної реакції аглютинації еритроцитів з обома тест-реагентами анти-А і анти-В необхідно провести додаткове контрольне дослідження даного зразка крові з фізіологічним розчином хлориду натрію. Для цього потрібно змішати одну краплю ізотонічного розчину з маленькою краплею досліджуваної крові в співвідношенні 10:1. Повторюють дослідження наявності антигенів А і В у цій контрольній краплі. При відсутності аглютинації і в цьому випадку можна бути впевненим, що кров належить до групи АВ (IV).

Тест-реагенти анти-А забарвлені в рожевий колір, а анти-В – у блакитний.

Хід проведення. На білу порцелянову тарілку нанести по одній краплі тест-реагентів анти-А і анти-В під відповідними написами. Поруч з краплями антитіл нанести по одній маленькій краплі досліджуваної крові в співвідношенні 10:1. Змішують кров з реагентами. Спостереження за ходом реакції провести при легкому погойдуванні тарілки протягом 2,5 хв.

Результат реакції у кожній краплі може бути позитивним або негативним. Позитивний результат виражається в аглютинації (склеюванні) еритроцитів. Аглютинати видно неозброєним оком у вигляді дрібних червоних агрегатів, які швидко зливаються і утворюють великі пластівці аж до одного великого аглютинату. При негативній реакції крапля залишається рівномірно забарвленою в червоний колір, аглютинати в ній не виявляються. Аглютинація з тест-реагентами анти-А і анти-В зазвичай настає в перші 3-5 с. Спостереження

слід вести 2,5 хв через можливість більш пізнього настання аглютинації з еритроцитами, що містять слабкі різновиди антигенів А і В.

Оцінка результатів аглютинації з тест-реагентами анти-А і анти-В (Цоліклони) наведені на рисунку 2 і в таблиці, в якій також містяться результати визначення аглютининів у сироватці (плазмі) донорів за допомогою стандартних еритроцитів.

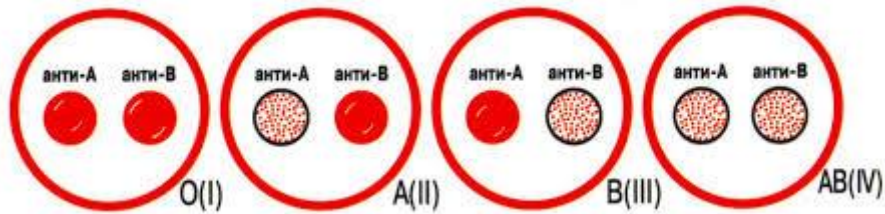


Рисунок 2. Результати визначення груп крові за системою АВ0 за допомогою Цоліклонів анти-А і анти-В.

Таблиця – Визначення груп крові людини

	Реакція досліджуваних еритроцитів з Цоліклоном		Реакція досліджуваної сироватки (плазми) зі стандартними еритроцитами групи		Досліджувана кров належить до групи
	Анти-А	Анти-В	А(II)	В(III)	
1	–	–	+	+	0(I)
2	+	–	–	+	A(II)
3	–	+	+	–	B(III)
4	+	+	–	–	AB(IV)

Оформити протокол дослідження. Записати результати визначення груп крові за системою АВ0 із застосуванням Цоліклонів анти-А й анти-В. Зробити висновки.

Завдання 3. Визначення груп крові за системою Резус за допомогою специфічної ізоімунної анти-D сироватки.

Принцип методу. Визначення наявності аглютиногена Rh-фактора в крові необхідно як і визначення групи крові за системою АВ0. Найбільш зручним способом визначення Rh-фактора є методика з використанням специфічної ізоімунної анти-D сироватки.

Хід проведення. На білу тарілку або планшету нанести по краплині антирезусної і контрольної сироваток. Проколоти палець скарифікатором, в обидві краплі внести кров обстежуваного. Через 5 хв фіксувати результат.

Оформити протокол дослідження. Записати результати визначення Rh-фактора з використанням специфічної ізоімунної анти-D сироватки. Зробити висновки.

Завдання 4. Визначення груп крові за системою Резус із застосуванням Цоліклона анти-D.

Принцип методу. Моноклональні антитіла Анти-D СУПЕР призначені для виявлення D-антигену системи Резус в еритроцитах людини. Вони застосовуються замість або паралельно з ізоімунною анти-D сироваткою.

Клінічне значення. Висновок про присутність D-резус антигену в досліджуваних еритроцитах роблять при наявності реакції аглютинації. Така кров є резус-позитивною.

Відсутність аглютинації еритроцитів у краплі говорить про те, що в досліджуваній крові немає антигену D. Отже, така кров є резус-негативною.

Для контролю специфічності тест-реагенту в кожен серію досліджень необхідно включати досліди зі стандартними D-позитивними і D-негативними еритроцитами.

Хід проведення. Визначення Rh D-антигену провести в нативній крові, взятій з пальця. На пластину з поверхнею, що змочується, нанести велику краплю тест-реагенту Анти-D СУПЕР. Поруч помістити маленьку краплю досліджуваної крові (у співвідношенні 10:1). Змішати кров з реагентом. Реакція аглютинації починає розвиватися через 10 с, чітко виражена аглютинація настає через 30-60 с. Результати реакції слід враховувати через 3 хв. Пластину після змішування реагенту з кров'ю рекомендується похитувати не відразу, а через 20-30 с, що дозволяє за цей час розвинути більш повної крупнопелюсткової реакції аглютинації.

Оформити протокол досліду. Записати результати визначення Rh-фактора з використанням Цоліклона анти-D. Зробити висновки.

Завдання 5. Вивчення умов та ходу проведення проб по визначенню групової сумісності крові.

У даний час переливання крові з урахуванням групової приналежності здійснюється тільки за принципом однойменної групи. В екстрених ситуаціях можливе застосування правила Оттенберга, яке засноване на підборі крові таким чином, щоб не допускати суміщення однойменних аглютиногенів донора і аглютинінів реципієнта (рис. 3). У цих випадках порція крові, що вводиться, обмежується кількістю 200 мл.

		Донор			
		А	В	АВ	0
Реципієнт	Група крові				
	А	так	ні	ні	так
	В	ні	так	ні	так
	АВ	так	так	так	так
0	ні	ні	ні	так	

	Фактор Rh	Донор	
		Rh ⁺	Rh ⁻
Реципієнт	Rh ⁺	так	так
	Rh ⁻	ні	ні

Рисунок 3. Схематичне зазначення допустимого переливання крові.

Принцип методу. Проби, які дозволяють зробити висновок про сумісність переливаної крові по груповій системі АВ0 і системі резус-фактора, обов'язкові і не замінюють одна одну.

Клінічне значення. Переливання несумісної крові викликає гемотрансфузійний шок, який характеризується важкими клінічними проявами, небезпечними для життя. Одним з механізмів розвитку даного стану є те, що в результаті склеювання еритроцитів при здійсненні реакції антиген-антитіло, звільняються фактори згортання крові і блокуються мікроциркуляторні судини всіх органів і тканин утвореними фібриновими і тромбоцитарними тромбами. Розвивається гостра серцево-судинна недостатність, порушення дихання, гостре порушення функції нирок і печінки.

Запобігти несумісності при переливанні крові, можна шляхом врахування анамнезу та проведення чутливих проб на сумісність.

Пряма проба. Еритроцити донора змішати зі свіжої сироваткою реципієнта при 37⁰С. Мета її – визначення в сироватці реципієнта антитіл до еритроцитів донора.

Зворотна проба. Еритроцити реципієнта помістити в сироватку донора при 37⁰С. Мета проби – виявлення в крові донора антитіл до еритроцитів реципієнта.

Біологічна проба. Її проводять перед переливанням наступним чином: потрібно струменево перелити 10-15мл крові (еритроцитарної маси, плазми), потім протягом 3 хв спостерігати за станом людини. При відсутності явищ несумісності пробу продовжити. Процедура слід повторити тричі. Відсутність реакції несумісності після проби дозволяє проводити переливання.

Оформити протокол дослідження. Записати результати проведення проб на сумісність крові по груповій системі АВ0 і системі резус-фактора. Зробити висновки.

ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Як проводять визначення груп крові по системі АВ0?
2. Як визначають резус-фактор?
3. Які причини помилок при визначенні груп крові?
4. Назвіть особливості несумісності груп крові та їх успадкування.

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Абдулкадыров К. М. Клиническая гематология: справочник. Санкт-Петербург : Питер, 2006. 448с.
2. Богданов А. Н., Волошин С. В., Кулибаба. Т. Г. Изменения в системе крови в клинической практике. Москва : Фолиант, 2017. 172 с.
3. Воробель А. В. Основи гематології : монографія. Івано-Франківськ : Вид-во «Плай» ЦІТ Прикарпатського університету імені Василя Стефаника, 2009. 148 с.
4. Гематологія : посібник / за ред. А. Ф. Романової. Київ : Медицина, 2006. 456 с.
5. Гематология. Национальное руководство / под ред. О. Я. Рукавицына. Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2017. 784 с.
6. Гематологические методы исследования. Клиническое значение показателей крови / В. Н. Блиндарь, Г. Н. Зубрихина, И. И. Матвеева, Н. Е. Кушлинский. Москва : МИА, 2013. 96 с.
7. Донсков С. И., Уртаев Б. М., Дубинкин И. В. Новая тактика гемотрансфузионной терапии – от совместимости к идентичности. Москва : Бином, 2015. 270 с.
8. Донсков С. И., Мороков В. А. Группы крови человека. Руководство по иммуносерологии. Москва : Бином, 2014. 1016 с.
9. Козинец Г. И., Высоцкий В.В. Кровь как индикатор состояния здоровья. Москва : Практическая медицина, 2014. 208 с.
10. Лабораторная гематология / С. А. Луговская, В. Т. Морозова, М. Е. Почтарь, В. В. Долгов. Москва : Триада, 2014. 218 с.
11. Минеева Н.В. Группы крови человека. Основы иммуногематологии. Санкт-Петербург : А-принт, 2004. 188 с.
12. Шиффман Ф. Дж. Патофизиология крови / пер. с англ. Н. Б. Серебряной, В. И. Соловьева. Москва : Санкт-Петербург : Бином, 2016. 448 с.