

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ
ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
КАФЕДРА КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

С.Г. Василю-Светлицкая Т.С. Дальнова

**МЕГАЛОБЛАСТНЫЕ АНЕМИИ.
ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА**

Учебно-методическое пособие

МИНСК БелМАПО
2014

УДК 616.155.194.5-074(075.9)

ББК 54.11+53.4я73

В 19

Рекомендовано в качестве учебно-методического пособия
УМС Белорусской медицинской академии последипломного образования
протокол № от 2014г.

Авторы:

к.м.н. доцент кафедры клин. лабораторной диагностики *Василиу-Светлицкая С.Г.*,
к.м.н. доцент кафедры клин. лабораторной диагностики *Дальнова Т.С.*

Рецензенты:

зав. клинко-диагностической лабораторией ГУ «РНПЦ онкологии и
медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова» к.м.н. *Державец Л.А.*

клинко-диагностическая лаборатория ГУ «Минская областная клиническая
больница»

Василиу-Светлицкая С.Г.

В 19 Мегалобластные анемии. Лабораторная диагностика. учебно-
методическое пособие /С.Г. Василиу-Светлицкая, Т.С. Дальнова –
Минск.: БелМАПО, 2014 – с.

ISBN 978-985-499-811-4

В учебно-методическом пособии, подготовленном сотрудниками кафедры
клинической лабораторной диагностики БелМАПО Василиу-Светлицкой С.Г., Дальновой
Т.С. приведены современные данные об этиологии, патогенезе, клинко-лабораторной и
дифференциальной диагностике мегалобластных анемий. Описаны морфологические
особенности клеток при мегалобластическом кроветворении.

Учебно-методическое пособие предназначено для слушателей переподготовки и
повышения квалификации БелМАПО, специалистов клинической лабораторной
диагностики, врачей других специальностей, студентов медицинских университетов.

УДК 616.155.194.5-074(075.9)
ББК 54.11+53.4я73

ISBN 978-985-499- 811-4

© Василиу-Светлицкая С.Г.,
Дальнова Т.С., 2014
© Оформление БелМАПО, 2014

Анемии, обусловленные нарушением синтеза ДНК и РНК – большая группа приобретенных и наследственных заболеваний, характерным признаком которых является развитие в костном мозге мегалобластического типа кроветворения. Оно развивается при дефиците витамина В₁₂ и (или) фолиевой кислоты. Сочетанный дефицит их встречается редко, главным образом при нарушении кишечного всасывания.

Происходит нарушение нормального созревания клеток красного ряда в костном мозге, появляются патологические клетки красного ряда – мегалобласты. Они имеют ряд морфологических особенностей – крупные размеры, относительно молодую структуру хроматина ядра, асинхронность в созревании ядра и цитоплазмы, раннюю гемоглобинизацию цитоплазмы. В периферической крови выявляются макроциты (эритроциты диаметром более 8 мкм) и мегалоциты (эритроциты диаметром более 12 мкм). Макроцитоз эритроцитов возможен как при мегалобластическом, так и при нормобластическом кроветворении.

Впервые В₁₂-дефицитную анемию описал Аддисон в 1849 году, Бирмер в 1872 году назвал ее «пернициозной анемией», т.е. злокачественной. Использование термина «пернициозная анемия» было связано с отсутствием эффективных методов лечения этого заболевания, что неизбежно приводило к летальному исходу. Это заболевание получило также название «анемия Аддисон-Бирмера». Примерно в то же время обнаружили, что в большинстве случаев у больных пернициозной анемией наблюдался атрофический гастрит. В 1926 году Майнэт и Мэрфи убедительно показали клинический эффект и улучшение лабораторных показателей у больных пернициозной анемией при лечении их диетой, содержащей большое количество печени. С этого времени заболевание перестало быть фатальным. В настоящее время В₁₂-дефицитная анемия лечится, имеет благоприятный прогноз. В англоязычной литературе термин «пернициозная анемия» используется и по сей день.

Американский ученый Кастл в 1929 году провел ряд исследований, которые выявили положительные результаты у больных тяжелой пернициозной анемией при употреблении в пищу сырого говяжьего мяса, предварительно обработанного желудочным соком здорового человека, в то время как ни мясо, ни желудочный сок в отдельности не приводили к клиническому и гематологическому эффекту. Кастл предположил, что с мясом в организм больного поступает какое-то вещество неизвестной природы, он его условно назвал «внешним фактором», которое взаимодействует с каким-то веществом, содержащимся в желудочном соке (Кастл условно назвал его «внутренним фактором»). В результате их взаимодействия образуется какое-то активное противоянэмическое вещество, которое всасывается в кишечнике, откладывается и накапливается в печени (она становится его депо) и по мере необходимости используется костным мозгом, обеспечивая нормальное кроветворение. Внешний фактор был выделен в 1948 году, его назвали витамином В₁₂. Изучение структуры витамина В₁₂ показало, что в центре этого

сложного соединения располагается атом кобальта. Витамин В₁₂ принято называть кобаламином. Выяснилось, что витамин В₁₂ является одновременно и внешним фактором, и антианемическим средством. В 70-х годах уточнили природу внутреннего фактора Кастла (ВФК). Оказалось, что это гастромукопротеин – термолабильный, щелочеустойчивый гликопротеин, секретируемый париетальными клетками слизистой оболочки фундального отдела и дна желудка. Секреция внутреннего фактора повышается при наличии пищи в желудке и находится под контролем n. vagus. Выработка его стимулируется гастрином, гистамином, ингибируется атропином, соматостатином, блокаторами Н₂-рецепторов и после ваготомии.

В дальнейшем была пересмотрена гипотеза Кастла, согласно которой в результате взаимодействия внешнего и внутреннего факторов образуется гемопоэтическое вещество. Оказалось, что парэнтеральное введение витамина В₁₂ больным мегалобластной анемией давало быстрый терапевтический эффект, а пероральный прием витамина В₁₂ больными оказывался эффективным только в случае добавления нормального желудочного сока. Было выяснено, что внутренний фактор Кастла необходим для всасывания витамина В₁₂ в кишечнике. Внутренний фактор абсорбирует более 70 % поступающего с пищей витамина В₁₂. Без внутреннего фактора витамин В₁₂ практически не всасывается (может всосаться только около 1% от поступившего с пищевым рационом витамина В₁₂ за счет диффузного всасывания его через кишечную стенку).

Таким образом, было установлено, что причиной анемии Аддисон-Бирмера является дефицит витамина В₁₂, и заболевание получило современное название – В₁₂-дефицитная анемия.

Основная часть витамина В₁₂ поступает в организм человека с пищей, незначительная часть синтезируется микрофлорой толстого кишечника. Витамин В₁₂ содержится только в продуктах животного происхождения: мясо, яйца, сыр, молоко, особенно много его в печени и в почках. В пищевых продуктах он всегда связан с белками, от которых постепенно освобождается: сначала в процессе кулинарной обработки, а затем, после поступления с пищевым рационом в организм человека – в желудке под действием соляной кислоты и протеолитического фермента пепсина. Это является первым важным этапом, необходимым для нормального всасывания витамина В₁₂. Затем витамин В₁₂ связывается с R-белками, которые обладают высокой электрофоретической подвижностью (название получили от англ. «rapid» - быстрый). R-белки относятся к белкам глобулиновой фракции, синтезируются слюнными железами, клетками слизистых оболочек. Образуется комплекс «Витамин В₁₂ + R-белок», который из желудка поступает в двенадцатиперстную кишку, где под влиянием фермента поджелудочной железы трипсина от него отщепляется R-белок. Витамин В₁₂ оказывается в свободном состоянии. В двенадцатиперстную кишку самостоятельно из желудка поступает внутренний фактор Кастла (гастромукопротеин). Витамин В₁₂ связывается с внутренним фактором, который защищает его от воздействия протеолитических ферментов. Щелочная среда содержимого

двенадцатиперстной кишки усиливает связь витамина В₁₂ и внутреннего фактора. Комплекс «Витамин В₁₂ + ВФ» продвигается по тонкому кишечнику, поступает в подвздошную кишку, где имеются высокоспецифические рецепторы для кобаламина (кубулин-рецепторы). Они располагаются на мембранах ворсинок энтероцитов. Комплекс «Витамин В₁₂ + ВФ» взаимодействует с рецепторами в присутствии Са²⁺ и при значениях рН близких к 7,0 (в пределах 6,8-8,4) путем эндоцитоза проникает в митохондрии клеток слизистой оболочки кишки. Внутри энтероцита витамин В₁₂ высвобождается от ВФ, связывается с транспортным белком транскобаламином. Образуется комплекс «Витамин В₁₂ + транскобаламин-II», который поступает в кровотоки.

Известны три типа транскобаламинов: I, II, III.

Транскобаламин-II – глобулин, синтезируется гепатоцитами, энтероцитами, фибробластами, макрофагами, клетками-предшественницами гемопоэза в костном мозге. Несмотря на большое физиологическое значение транскобаламина II, он переносит лишь 20-30% от уровня всосавшегося витамина В₁₂. Транскобаламин-II переносит витамин В₁₂ в печень и в костный мозг. В этих органах витамин В₁₂ высвобождается из комплекса «Витамин В₁₂ + транскобаламин-II» путем лизосомального гидролиза. В костном мозге витамин В₁₂ используется для кроветворения, в печени – депонируется и в дальнейшем при необходимости поступает в кровь. В печени происходит метилирование витамина В₁₂, после чего метилкобаламин попадает в плазму крови. Часть витамина В₁₂ из печени в составе желчи снова поступает в двенадцатиперстную кишку и в дальнейшем всасывается согласно вышеописанному механизму.

Остальная часть витамина В₁₂ связывается с транскобаламинами I и III, которые синтезируются преимущественно гранулоцитами. Функции транскобаламинов I и III недостаточно изучены.

Таким образом, для нормального обмена витамина В₁₂ в организме необходимы следующие факторы: наличие витамина в пище, достаточные желудочная и панкреатическая секреции, интактная подвздошная кишка, наличие транскобаламинов.

Транскобаламин II – глобулин, синтезируется гепатоцитами, фибробластами, макрофагами, энтероцитами. Переносит витамин В₁₂ в костный мозг, где он используется для нужд гемопоэза, и в печень, которая является депо витамина В₁₂. Несмотря на большое физиологическое значение транскобаламина II, он переносит лишь 20-30% от уровня всосавшегося витамина В₁₂. Остальная часть витамина В₁₂ связывается с транскобаламинами I и III, которые синтезируются преимущественно гранулоцитами. Функции транскобаламинов I и III недостаточно изучены.

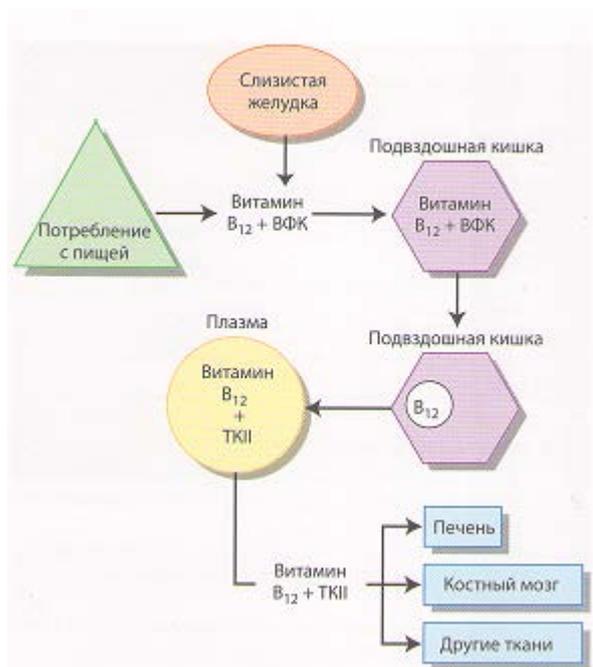


Рис.1 Всасывание и транспорт витамина B₁₂ (Б. Сисла, 2011г.)

Содержание витамина B₁₂ в организме здорового взрослого человека составляет 2-5 мг, суточная потребность в нем – 3-7 мкг. В период беременности, усиленного роста детей увеличивается суточная потребность в витамине B₁₂. После прекращения всасывания витамина B₁₂ (например, после гастрэктомии) запасов его в организме хватает на 3-5 лет.

Роль витамина B₁₂ в организме

Свою биологическую роль витамин B₁₂ выполняет в виде двух коферментов – метилкобаламина и 5-дезоксаденозилкобаламина. С их помощью витамин B₁₂ осуществляет две важные реакции. Первая из них обеспечивает нормальное кроветворение в костном мозге. В ней участвует метилкобаламин. В ходе реакции из уридин-монофосфата образуется тимидин-монофосфат, включаемый в ДНК. Для синтеза тимидин-монофосфата необходима активная форма фолиевой кислоты – 5,10 метилентетрагидрофолиевая кислота (метил-ТГФ), из которой в ходе реакции образуется тетрагидрофолиевая кислота. Метилкобаламин необходим для образования тетрагидрофолиевой кислоты. Без витамина B₁₂ нарушается эта циклическая реакция, в результате чего страдает синтез тимидинфосфата, а, следовательно, и синтез ДНК. Таким образом, кофермент витамина B₁₂ метилкобаламин необходим для нормального синтеза ДНК.

При дефиците витамина B₁₂ в костном мозге развивается мегалобластическое кроветворение. Одновременно происходят нарушение и неэффективность гранулоцитопоеза и тромбоцитопоеза. Появляются гранулоциты и тромбоциты гигантских размеров.

Таким образом, дефицит витамина В₁₂ и соответственно его кофермента метилкобаламина приводят к неэффективности гемопоэза с развитием мегалобластной анемии, лейкопении и тромбоцитопении. Дефицит метилкобаламина также приводит к нарушению созревания эпителиальных клеток желудочно-кишечного тракта, обуславливает развитие атрофии слизистой оболочки желудка и тонкого кишечника.

Вторая реакция, в которой участвует витамин В₁₂ в виде своего кофермента 5-дезоксаденозилкобаламина, необходима для нормального обмена жирных кислот.

При дефиците витамина В₁₂ нарушается продукция холина и холинсодержащих фосфолипидов, происходит распад жирных кислот с образованием пропионовой кислоты. Одним из промежуточных продуктов ее метаболизма является метилмалоновая кислота. Она обладает токсичностью для нервной системы, приводит к нарушению синтеза миелина нервных волокон, поэтому у больных с дефицитом витамина В₁₂ может развиваться фуникулярный миелоз, т.е. повреждение задних и боковых столбов спинного мозга. При участии кофермента витамина В₁₂ 5-дезоксаденозилкобаламина из токсичной метилмалоновой кислоты образуется безвредная янтарная кислота.



Рис.2 Патогенез В₁₂-дефицитной анемии

Патогенез нарушений гемопоэза при мегалобластных анемиях

Изменения со стороны кроветворной системы выражаются в развитии мегалобластического кроветворения. Клетки костного мозга утрачивают способность к нормальному созреванию. Особенно выражены нарушения со

стороны клеток эритропоэза. При дефиците витамина В₁₂ клетки перестают синтезировать необходимое для клеточного деления количество ДНК, что приводит к нарушению синтеза нуклеиновых кислот. Замедляется удвоение ДНК, вследствие чего замедляется деление клеток, уменьшается количество митозов (клетки совершают только 1-2 митоза), но увеличивается продолжительность митотических циклов. Во время продолжительной фазы покоя хроматин диффузно рассеивается на всем протяжении ядра, придавая ему мегалобластный вид. Клетки костного мозга утрачивают способность к нормальному созреванию. Нарушается синхронность в созревании ядра и цитоплазмы. Происходит замедленное созревание ядра при ненарушенной способности клетки к синтезу гемоглобина. Конденсация хроматина в ядре начинается при почти законченной гемоглобинизации цитоплазмы. Конденсированный хроматин расположен в ядрах клеток в виде глыбок неправильной формы. При выраженной гемоглобинизации цитоплазмы ядро сохраняет незрелый вид.

Образуются мегалобласты – крупные клетки красного ряда с относительно молодыми ядрами и широкой цитоплазмой, богатой гемоглобином. Ранняя гемоглобинизация является важным признаком клеток мегалобластического ряда. Отмечаются значительные дегенеративные изменения в ядрах клеток: уродливость, многоядерность, митозы. В костном мозге наблюдается эритроидная гиперплазия. Не смотря на это, продукция эритроцитов снижена, что обусловлено резким повышением неэффективного эритропоэза, т.е. внутрикостномозгового разрушения эритрокариоцитов, и разрушением в костном мозге клеток-предшественниц красного ряда. Наблюдается эритроидная гиперплазия. Мегалобласты – хрупкие клетки. Многие из них разрушаются в костном мозге. Меньшая часть мегалобластов вызревает, превращается в макроциты и мегалоциты, продолжительность жизни которых по сравнению с нормальными эритроцитами укорочена в 2-3 раза. В мегалоцитах могут быть включения в виде телец Жолли (остатки ядерного вещества), колец Кебота (остатки ядерной оболочки), базофильной зернистости. Замедленное созревание и повышенное разрушение мегалобластов в костном мозге, а также повышенное разрушение мегалоцитов в периферической крови являются проявлением неэффективного эритропоэза и приводят к развитию глубокой анемии. Одновременно происходят нарушения и неэффективность гранулоцитопоэза и тромбоцитопоэза. Дефицит витамина В₁₂ влечет за собой изменения и со стороны лейкопоэза, поскольку синтез ДНК нарушается во всех клетках. Замедление процессов пролиферации приводит к увеличению размеров миелоцитов, метамиелоцитов, палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, характерна гиперсегментация ядер нейтрофилов. Количество мегакариоцитов обычно нормальное, может нарушаться отшнуровка тромбоцитов. Появляются гранулоциты и тромбоциты гигантских размеров. В тяжелых случаях развиваются нейтропения, тромбоцитопения.

Таким образом, дефицит витамина В₁₂ и соответственно его кофермента метилкобаламина приводит к неэффективности гемопоэза с развитием мегалобластной анемии, лейкопении и тромбоцитопении.

Основные причины развития дефицита витамина В₁₂

I Нарушение всасывания витамина В₁₂, обусловленное:

1) нарушением секреции внутреннего фактора:

- атрофический гастрит (аутоиммунный и др.)
- тотальная гастрэктомия, резекция 2/3 желудка
- химический ожог слизистой желудка
- полипоз желудка
- рак желудка
- врожденное нарушение секреции внутреннего фактора

2) нарушением всасывания витамина В₁₂ в тонком кишечнике:

- хронические энтериты, спру, глютеновая энтеропатия, целиакия
- резекция участка подвздошной кишки
- рак тонкого кишечника
- синдром мальабсорбции
- хронический панкреатит с нарушением секреции протеолитического фермента трипсина

- синдром Имерслунд-Грэсбека (наследственное отсутствие рецепторов к комплексу «Витамин В₁₂ + внутренний фактор» в слизистой оболочке подвздошной кишки)

3) лекарственные препараты, которые препятствуют всасыванию витамина В₁₂:

- ПАСК, неомицин, колхицин, фенобарбитал, метотрексат, 6-меркаптопурин, гидроксимочевина

II Конкурентное потребление витамина В₁₂

- инвазия широким лентецом (дифиллоботриоз)
- синдром «слепой петли»
- дивертикулез тонкого кишечника

III Алиментарный дефицит витамина В₁₂ (строгое вегетарианство)

IV Дефицит транскобаламина-II

В₁₂-дефицитная анемия может сочетаться с другими аутоиммунными заболеваниями (гипотиреоз, аутоиммунная гемолитическая анемия).

Наиболее частой причиной развития дефицита витамина В₁₂ является атрофический гастрит, при котором прекращаются или уменьшаются секреторная способность слизистой оболочки желудка и синтез внутреннего фактора (гастромукопротеина). Частота и выраженность атрофического гастрита увеличивается с возрастом. Снижение секреции внутреннего фактора наблюдается примерно через 3-4 года после гастрэктомии или резекции 2/3 желудка (за это время истощается запас витамина В₁₂ в организме).

Развитие атрофического гастрита отмечается и при раке, и при распространенном полипозе желудка.

Хронический атрофический гастрит и пернициозная анемия часто сопровождаются появлением аутоантител против париетальных клеток слизистой желудка. Антитела к париетальным клеткам присутствуют примерно

у 90% пациентов с пернициозной анемией, у 50% пациентов с атрофическим гастритом без пернициозной анемии и у 33% больных тиреоидитом.

Антитела к париетальным клеткам желудка, синтезирующим внутренний фактор, или к самому внутреннему фактору определяются с помощью иммуноферментного анализа. Они могут также появиться на фоне аутоиммунных заболеваний (аутоиммунный тиреоидит, инсулинозависимый диабет, ревматоидный артрит и др.).

Для пернициозной анемии специфично наличие циркулирующих аутоантител к внутреннему фактору. Описаны два типа аутоантител к внутреннему фактору:

- аутоантитела I-го типа. Блокируют участок на молекуле внутреннего фактора, препятствуют связыванию витамина B_{12} .
- аутоантитела II -го типа. Блокируют другой участок на молекуле внутреннего фактора, который участвует в связывании комплекса «витамин B_{12} + внутренний фактор» с рецепторами энтероцитов подвздошной кишки, препятствуют всасыванию витамина B_{12} в кишечнике.

Антитела к внутреннему фактору обнаруживаются у 50-70% больных пернициозной анемией.

Нарушение секреции внутреннего фактора может развиваться при повреждении слизистой оболочки желудка кислотами (химический ожог), вследствие длительного употребления неразведенного спирта.

В развитии B_{12} -дефицитной анемии имеют значение и генетические факторы. Примерно у 20-30 % больных отмечается семейная предрасположенность, которая проявляется в выработке антител к париетальным клеткам слизистой оболочки желудка, вырабатывающим внутренний фактор, или к самому внутреннему фактору. В таких семьях заболевание развивается в 20 раз чаще, чем в популяции.

В редких случаях наблюдаются наследственные формы дефицита витамина B_{12} .

Конкурентное расходование витамина B_{12} происходит при дифиллоботриозе, т.е. при инвазии широким лентецом (*Diphyllobotrium latum*). Он часто паразитирует в рыбе, живущей в озерах. Человек заражается при употреблении сырой или недостаточно обработанной рыбы. Гельминт паразитирует в тощей кишке. Он разрушает комплекс витамина B_{12} с внутренним фактором, нарушает абсорбцию витамина. Кроме того, широкий лентец вызывает дисбактериоз, а также использует витамин для собственного роста.

После операций на тонком кишечнике вследствие наложения анастомозов остаются слепые участки его, которые не участвуют в процессе пищеварения (синдром «слепой петли»). В них застаивается содержимое кишечника и размножается огромное количество кишечных бактерий, поглощающих витамин B_{12} . Они используют его для синтеза ДНК бактерий. При множественных дивертикулах тонкого кишечника наблюдается аналогичная ситуация.

Морфология клеток эритропоэза при мегалобластическом кроветворении

По степени зрелости клетки при мегалобластическом кроветворении делят на промегалобласты, базофильные, полихроматофильные и оксифильные мегалобласты, мегалоциты, макроциты. Макроциты наблюдаются при нормобластическом и при мегалобластическом кроветворении.

Промегалобласт – крупная клетка, 15-30 мкм в диаметре, по степени зрелости соответствует эритробласту при нормобластическом кроветворении. Ядро круглое или овальное, занимает большую часть клетки. Ядерно-цитоплазматическое соотношение высокое. Хроматин ядра нежный, мелкогранулярный. Может быть несколько нуклеол. Цитоплазма шире, чем у эритробласта, базофильная, иногда с грязновато-серым оттенком. Имеется перинуклеарная зона просветления, она может быть розоватого цвета, что свидетельствует о ранней гемоглобинизации цитоплазмы.

Базофильный мегалобласт – крупная клетка, по размерам равна промегалобласту или несколько меньше его. Ядро круглое или овальное, расположено в центре или эксцентрично. Структура хроматина ядра грубее, чем у промегалобласта, пятнистая, представлена чередующимися комочками розоватого и темно-фиолетового цвета. Напоминает жирный мясной фарш. Нуклеол нет. Цитоплазма широкая, базофильная, может иметь сероватый оттенок. Перинуклеарная зона просветления часто серовато-розового цвета.

Полихроматофильный мегалобласт – клетка несколько меньших размеров. Ядро круглое или овальное, лежит в центре или эксцентрично. Хроматин ядра грубый, пятнистый, комочки его располагаются беспорядочно, не имеют колесовидной структуры, свойственной полихроматофильному нормобласту. Имеет вид четкого мясного фарша. Цитоплазма широкая, серая, с розоватым оттенком.

Оксифильный мегалобласт – последняя ядродержащая клетка ряда. В диаметре 15-20 мкм. Ядро лежит в центре или эксцентрично. Ядро может иметь круглую, овальную или причудливую форму. У части клеток структура хроматина ядра относительно молодая, рыхлая, у других – пикнотичная. Не бывает колесовидной структуры хроматина. Цитоплазма широкая, насыщенно розового цвета.

Мегалоцит – эритроцит огромных размеров, диаметр которого более 12 мкм, овальной или округлой формы, чаще гиперхромный и не имеет центрального просветления.

Макроцит – эритроцит, диаметр которого более 8 мкм (бывает и при нормобластическом кроветворении).

Основные отличия мегалобластов от нормобластов

- Мегалобласты крупнее нормобластов. Наряду с преобладающими макроформами могут встречаться мегалобласты средних и малых (микроформы) размеров.

- Ядра базофильных и полихроматофильных мегалобластов часто лежат эксцентрично.
- Ядра мегалобластов часто имеют причудливую форму.
- Цитоплазма мегалобластов шире, чем у нормобластов.
- Асинхронность в созревании ядра и цитоплазмы.
- При мегалобластическом кроветворении отмечается ранняя гемоглобинизация цитоплазмы. Иногда ее можно обнаружить у промегалобластов, т.е. клеток по степени зрелости соответствующих эритробластам при нормобластическом кроветворении.
- Структура хроматина ядра мегалобластов напоминает мясной фарш.
- Структура хроматина ядра полихроматофильных мегалобластов не бывает колесовидной, что свойственно полихроматофильным нормобластам.
- Мегалобласты, в отличие от нормобластов, избавляются от ядер не путем выталкивания. Их ядра сначала распадаются на фрагменты (кариорексис), часть которых выталкивается из клетки, а часть – лизируется (кариолизис). Поэтому в цитоплазме мегалобластов часто обнаруживаются тельца Жолли (остатки ядер), в эритроцитах тельца Жолли, кольца Кебота (остатки ядерной оболочки).

Клиническая картина витамин В₁₂-дефицитной анемии включает три основных синдрома:

- анемический
- неврологический
- желудочно-кишечный

Чаще болеют пожилые люди. Заболевание развивается медленно. При объективном обследовании выявляется характерная бледность кожи, часто с лимонно-желтым оттенком, нередко – субиктеричность кожи и склер. Отмечается пастозность голеней и стоп. Чаще витамин В₁₂-дефицитная анемия дебютирует анемическим синдромом. Появляются жалобы на слабость, быструю утомляемость, головные боли, головокружения, тахикардию, одышку.

У некоторых больных развитие неврологической симптоматики опережает другие проявления заболевания. Она проявляется картиной периферической полиневропатии: парестезиями (ощущение ползания мурашек, постоянного холода в ногах, онемение, нарушение чувствительности в конечностях, слабость в ногах – «ватные ноги»). Могут развиваться опоясывающие боли, явления полиневрита, иногда в тяжелых случаях бывают судорожные припадки, галлюцинации. Неврологическая симптоматика обусловлена развивающимся у пациентов фуникулярным миелозом. Изредка возможны парезы, параличи нижних конечностей.

Примерно у половины больных появляются жалобы на нарушение функций пищеварительной системы. Это снижение аппетита, диспептические расстройства, может возникнуть отвращение к некоторым продуктам (мясу, хлебу и др.). Иногда больные жалуются на чувство жжения, боли в языке, особенно при употреблении кислых продуктов. На языке могут появиться участки воспаления ярко-красного цвета, изъязвления. Сосочки языка

постепенно атрофируются, он приобретает вид сглаженного, лакированного (глоссит Хантера). Выраженный глоссит встречается редко. Развитие глоссита не является абсолютным признаком В₁₂-дефицитной анемии, так как он может развиваться и при другой патологии (например, при тяжелой железодефицитной анемии).

У больных В₁₂-дефицитной анемией часто наблюдается атрофический гастрит со снижением желудочной секреции. Возможно увеличение печени и селезенки.

Тяжелым осложнением является развитие пернициозной комы в результате быстрой анемизации и ишемии головного мозга. У больных отмечается выраженная бледность кожи с лимонно-желтым оттенком. Желтуха обусловлена гипербилирубинемией за счет свободного гемоглобина, обусловленной повышенным внутриклеточным гемолизом и неэффективным эритропоезом в костном мозге.

Лабораторная диагностика В₁₂-дефицитной анемии

Общий анализ крови. Анемия макроцитарная, гиперхромная. Количество эритроцитов резко снижено, отмечается увеличение среднего объема эритроцитов (MCV > 100 фл) и среднего содержания гемоглобина в эритроците (MCH > 32 пг), средняя концентрация гемоглобина в 1 эритроците (MCHC) в норме. Эритроцитарная гистограмма значительно смещается вправо, уплощается. Цветовой показатель выше нормы (1,3 – 1,6). Анизоцитоз эритроцитов за счет макроцитов (средний диаметр > 8 мкм) и мегалоцитов (средний диаметр 12 и > мкм). Количество мегалоцитов варьирует в зависимости от тяжести анемии. Эритроциты гиперхромные за счет толщины клетки, имеют равномерную окраску, центральное просветление отсутствует. Характерен пойкилоцитоз, шизоцитоз эритроцитов. Встречаются эритроциты с тельцами Жолли, кольцами Кебота, с базофильной зернистостью (остатки РНК). Количество ретикулоцитов снижено.

Уменьшается количество лейкоцитов, главным образом за счет нейтрофилов. Отмечается сдвиг лейкоцитарной формулы вправо – появляются крупные сегментоядерные нейтрофилы с гиперсегментированными ядрами. Количество сегментов в них 6-8, иногда может достигать 10-12 (при норме до 5). Одновременно может быть сдвиг лейкоцитарной формулы влево до метамиелоцитов и даже миелоцитов. Встречаются макроформы нейтрофилов. Уменьшается количество эозинофилов вплоть до их исчезновения. Снижается количество моноцитов. Относительный лимфоцитоз. Примерно у половины больных уменьшается количество тромбоцитов, иногда значительно. Среди тромбоцитов часто бывают гигантские формы диаметром до 7-8 мкм. Функциональная активность тромбоцитов сохранена, явлений кровоточивости практически не наблюдается. Развитие лейкопении и тромбоцитопении обусловлено неэффективными гранулоцитопоезом и тромбоцитопоезом.

В периферической крови могут появиться мегалобласты и нормобласты, часто с дегенеративно измененными ядрами. В их цитоплазме встречаются

тельца Жолли, базофильная зернистость. В зависимости от степени выраженности анемии СОЭ ускорена до 50-70 мм/ч.

При обнаружении в крови панцитопении (эритроцитопения, лейкопения, тромбоцитопения), особенно у пожилых людей, прежде всего нужно исключить мегалобластную анемию. С этой целью показано исследование костного мозга.

Миелограмма. Пункцию костного мозга с диагностической целью необходимо сделать до начала лечения, так как даже однократная инъекция витамина В₁₂ может привести к исчезновению мегалобластов.

Пунктат костного мозга богат клеточными элементами. Преобладают клетки красного ряда. Лейко-эритробластический индекс составляет 1:1; 0,5:1; 0,3:1 (при норме 3:1; 4:1). При тяжелых формах анемии кроветворение полностью проходит по мегалобластическому типу, когда почти все клетки красного ряда представлены мегалобластами. Если преобладают промегалобласты и базофильные мегалобласты, т.е. клетки с базофильной цитоплазмой, такой костный мозг называют «синим». При этом количество оксифильных мегалобластов снижается или они могут отсутствовать. У других больных преобладают полихроматофильные и оксифильные мегалобласты. Ядра многих мегалобластов дегенеративно изменены. При менее выраженных В₁₂-дефицитных анемиях и во время лечения больных кроветворение в костном мозге проходит по смешанному типу, т.е. по нормобластическому и по мегалобластическому. Клетки красного ряда представлены эритробластами и нормобластами, промегалобластами и мегалобластами. Нарушение деления клеток при нормальном синтезе гемоглобина создает условия для усиления неэффективного эритропоэза. Отмечаются признаки дизэритропоэза: многоядерные клетки, межъядерные хроматиновые мостики, встречаются тельца Жолли. Встречаются клетки в состоянии апоптоза, о чем свидетельствует кариорексис, пикноз ядер.

Недостаток витамина В₁₂ влечет за собой изменения и со стороны лейкопоэза, так как синтез ДНК нарушается во всех клетках. Замедление процессов пролиферации приводит к увеличению размеров миелоцитов, метамиелоцитов, палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов. Макроцитоз нейтрофилов еще сохраняется примерно в течение месяца после наступления гематологической ремиссии. Отмечается гиперсегментация ядер нейтрофилов. Количество мегакариоцитов обычно нормальное, при тяжелых анемиях снижено. В мегакариocyтах может нарушиться отшнуровка тромбоцитов.

В тех случаях, когда кроветворение проходит по смешанному типу (т.е. по нормобластическому и по мегалобластическому), при подсчете миелограммы к мегалобластам относят только типичные клетки, все остальные клетки относят к нормобластам.

Биохимический анализ крови. Неэффективный гемопоэз (внутрикостномозговое разрушение эритрокариоцитов) и короткая продолжительность жизни мегалоцитов приводят к повышению уровня

свободного билирубина и ЛДГ в сыворотке крови. У больных умеренная гипербилирубинемия за счет свободного билирубина. Уровень сывороточного железа чаще в норме, иногда до начала лечения немного повышен. В период лечения уровень железа в сыворотке снижается, так как оно активно используется для нужд эритропоэза. При сочетании V_{12} - и железодефицитной анемий нередко снижен также уровень сывороточного железа.

Диагноз устанавливается по результатам исследования миелограммы (обнаруживается мегалобластическое кроветворение), по типичной морфологической картине периферической крови. Для подтверждения диагноза V_{12} -дефицитной анемии информативны дополнительные методы исследования: определение уровня витамина V_{12} в сыворотке больных; определение количества метилмалоновой кислоты (продукта обмена жирных кислот) в сыворотке и в моче больных; исследование процесса всасывания витамина V_{12} в кишечнике; определение аутоантител к париетальным клеткам слизистой желудка, которые секретирует внутренний фактор, и к самому внутреннему фактору. При V_{12} -дефицитной анемии уровень витамина V_{12} в сыворотке крови снижен, метилмалоновой кислоты в сыворотке и в моче повышен (метилмалоновая ацидурия), нарушен процесс всасывания витамина V_{12} в кишечнике.

Больных лечат большими дозами препаратов витамина V_{12} . На 3-4 день от начала лечения начинает увеличиваться количество ретикулоцитов в периферической крови, максимальный подъем их отмечается на 5-8 день (ретикулоцитарный криз, когда количество ретикулоцитов увеличивается в два и большее количество раз по сравнению с исходным). Прогноз благоприятный при своевременно установленном диагнозе и правильном лечении, включая поддерживающую терапию препаратами витамина V_{12} . Отсутствие эффекта от лечения витамином V_{12} свидетельствует о том, что диагноз поставлен неправильно.

Дифференциальная диагностика мегалобластных анемий требует более широкого набора лабораторных данных, позволяющих установить дефицит витамина V_{12} , фолиевой кислоты или внутреннего фактора Кастла. Для этого используются такие методы, как радиоиммунный анализ для определения уровня витамина V_{12} и фолиевой кислоты в сыворотке и уровня фолиевой кислоты в эритроцитах, анализ желудочного содержимого для выявления ахлоргидрии, иммуноферментный анализ для выявления антител к внутреннему фактору Кастла и обкладочным клеткам. Так, на момент постановки диагноза антитела к обкладочным клеткам выявляются у 90% больных, хотя этот признак не специфичен для V_{12} -дефицитной анемии, поскольку отмечается также при эндокринных нарушениях. Определение антител к внутреннему фактору Кастла – относительно дешевый, надежный и высокоспецифичный метод диагностики V_{12} -дефицитной анемии. Эти антитела делятся на два типа: блокирующие и связывающие. Первые из них предотвращают образование комплекса между витамином V_{12} и внутренним фактором Кастла, вторые – прикрепление этого комплекса к рецепторам тонкой кишки. Определить тип этих антител можно с помощью радиоиммунного анализа. Однако эталонным

методом диагностики В₁₂-дефицитной анемии остается проба Шиллинга, позволяющая оценить всасывание витамина В₁₂ в кишечнике. Хотя эта проба проводится в два этапа и требует больших затрат времени и средств, она позволяет получить ценную информацию о причинах В₁₂-дефицитной анемии. На первом этапе больным дают внутрь витамин В₁₂, меченный радиоактивным изотопом. Затем не позднее, чем через два часа, вводят внутримышечно немеченый витамин В₁₂ для полного насыщения участков связывания витамина В₁₂ в печени. После внутримышечного введения витамина В₁₂ собирают суточную мочу для оценки экскреции меченного витамина В₁₂. Если внутренний фактор Кастла вырабатывается и всасывание витамина В₁₂ не нарушено, то с мочой выводится от 5% до 30% количества от введенного меченного радиоактивным изотопом витамина В₁₂. Если же экскреция меченного витамина В₁₂ снижается, то это говорит о синдроме нарушенного всасывания. На втором этапе пробы одновременно с меченым витамином В₁₂ вводят внутренний фактор Кастла, а дальнейшие процедуры, включая внутримышечное введение немеченого витамина В₁₂, проводят так же, как на первом этапе. Нормализация экскреции витамина В₁₂ свидетельствует о дефиците внутреннего фактора Кастла, а сниженная экскреция – о наличии синдрома нарушенного всасывания. Важно отметить, что нарушение функции почек и небрежный сбор суточной мочи приводят к искажению результатов пробы. Анализ результатов пробы Шиллинга позволяет точно установить, что является причиной дефицита витамина В₁₂ – недостаток внутреннего фактора Кастла или нарушение всасывания.

Наследственные формы В₁₂-дефицитной анемии

Это редкая патология, развивается при мутации генов, определяющих процессы обмена витамина В₁₂ в организме.

1. Синдром Имерслунд-Гресбека

Заболевание наследуется по аутосомно-рецессивному типу, болеют дети обоего пола. Чаще впервые проявляется в возрасте до двух лет, иногда несколько позднее, так как до этого времени ребенок обеспечен витамином В₁₂, полученным внутриутробно от матери. Симптомы заболевания обычно появляются постепенно. У детей отмечают вялость, слабость, раздражительность, потерю аппетита, вплоть до анорексии, диспептические расстройства и атрофию сосочков языка. Увеличены селезенка и печень (приблизительно у 30% больных). Постепенно нарастает бледность кожных покровов и слизистых, появляется субиктеричность склер. Типичными являются и неврологические нарушения – гиперрефлексия, появление патологических рефлексов (рефлекс Бабинского), атаксия, возможно развитие клональных судорог и комы. Таким образом, клиническая симптоматика соответствует проявлениям В₁₂-дефицитной анемии. Обследование таких больных показало, что у них развивается мегалобластная анемия с нормальной или субнормальной желудочной секрецией, нормальным содержанием

внутреннего фактора в желудке. Отсутствуют антитела к париетальным клеткам слизистой желудка и внутреннему фактору. Гистологическое исследование слизистой желудка не находит изменений. Но обнаружено нарушение кишечного всасывания витамина В₁₂, т.е. селективная мальабсорбция, так как всасывание других веществ не нарушено. Примерно у 90% больных отмечается протеинурия, которая сохраняется и в период гематологической ремиссии. При этом отсутствуют другие изменения в моче. Показатели функционального состояния почек нормальные, хотя иногда может быть незначительное уменьшение почечной фильтрации без признаков почечной недостаточности.

Дефицит витамина В₁₂ при синдроме Имерслунд-Гресбека развивается вследствие нарушения функции или снижения количества высокоспецифичных рецепторов на энтероцитах слизистой оболочки подвздошной кишки, что приводит к нарушению всасывания витамина через кишечную стенку.

Лабораторное обследование обнаруживает гематологические изменения, характерные для мегалобластной В₁₂-дефицитной анемии, метилмалоновую ацидурию, снижение концентрации витамина В₁₂ в сыворотке крови.

Лечение не отличается от других форм витамин В₁₂-дефицитной анемии.

2. Наследственный дефицит внутреннего фактора

Заболевание наследуется аутосомно-рецессивно. В течение первого года жизни у детей показатели крови нормальные, но чаще на втором году жизни или несколько позднее появляются и нарастают клинические признаки, характерные для мегалобластной анемии. Обследование обнаружило наследственное нарушение секреции внутреннего фактора: париетальные клетки слизистой тела и дна желудка не способны секретировать полноценный внутренний фактор либо секретируют его в недостаточном количестве.

Прибавление нормального желудочного сока или концентрата внутреннего фактора нормализует всасывание витамина В₁₂ в кишечнике.

Гематологические проявления у больных такие же, как при В₁₂-дефицитной анемии.

3. Наследственный дефицит транскобаламина II

Из трех типов транскобаламина только транскобаламин II участвует в переносе витамина В₁₂ в костный мозг. Врожденное отсутствие транскобаламина II при гомозиготном носительстве вызывает глубокий дефицит витамина В₁₂ в клетках, при этом уровень его в сыворотке крови остается в пределах нормы. Это происходит за счет всасывания витамина В₁₂ с транскобаламинами I и III.

При рождении большинство детей здоровы. Мегалобластная анемия развивается у них в возрасте нескольких недель. Клиническая и лабораторная симптоматика соответствует выраженной форме В₁₂-дефицитной анемии. При гетерозиготном носительстве сниженное содержание транскобаламина II обычно не вызывает клинических и лабораторных признаков заболевания.

Дифференциальная диагностика В₁₂- дефицитной анемии

Проводится со следующими заболеваниями: некоторыми видами анемий (гемолитическими, апластической, фолиево-дефицитной), миелодиспластическим синдромом (МДС), острым эритромиелозом, пароксизмальной ночной гемоглобинурией (ПНГ).

Нередко больным В₁₂-дефицитной анемией ошибочно ставится диагноз гемолитической анемии в связи с повышенным уровнем свободного билирубина в сыворотке крови, который обусловлен повышенной хрупкостью мегалобластов в костном мозге и мегалоцитов в периферической крови (неэффективный эритропоэз). Вероятность ошибки увеличивается, если исследование периферической крови проводится на фоне лечения витамином В₁₂ или фолиевой кислотой (на этом фоне отмечаются значительный ретикулоцитоз, нормальный уровень лейкоцитов и тромбоцитов, умеренное количество нормоцитов, полихроматофилия). В данной ситуации правильной диагностике В₁₂-дефицитной анемии помогает оценка морфологических изменений клеток эритропоэза, нейтрофилов в препаратах периферической крови и костного мозга. Для В₁₂-дефицитной анемии характерен анизоцитоз эритроцитов за счет макроцитов, возможно наличие мегалоцитов, отмечается сдвиг лейкоцитарной формулы вправо, в костном мозге преобладают клетки мегалобластического кроветворения.

В₁₂-дефицитная анемия с выраженным гемолитическим синдромом и аутоиммунная гемолитическая анемия имеют сходные лабораторные показатели: панцитопению, гипербилирубинемия за счет свободного билирубина, гиперплазию красного ростка костного мозга. Отличительными диагностическими признаками аутоиммунной гемолитической анемии являются: нормохромный, нормоцитарный характер анемии, ретикулоцитоз, в мазке периферической крови отсутствуют включения в эритроцитах и гиперсегментация ядер нейтрофилов. В костном мозге гиперплазия эритроидного ростка на фоне нормобластического типа кроветворения (клетки красного ряда представлены эритробластами, нормобластами). Прямая проба Кумбса положительная (выявляет антитела к эритроцитам). В₁₂-дефицитная анемия имеет гиперхромный характер. В мазке периферической крови анизоцитоз эритроцитов за счет макро- и мегалоцитов, обнаруживаются включения в эритроциты (тельца Жолли, кольца Кебота, базофильная зернистость), гиперсегментация ядер нейтрофилов. Количество ретикулоцитов снижено или они отсутствуют. В периферическую кровь могут выходить эритрокариоциты из костного мозга. В миелограмме мегалобластический тип кроветворения (среди клеток красного ряда имеются мегалобласты, их количество и состав зависят от степени тяжести мегалобластной анемии). Прямая проба Кумбса отрицательная.

В ряде случаев при В₁₂-дефицитной анемии отмечается выраженная лейкопения и тромбоцитопения, что дает основание предполагать апластическую анемию. Для уточнения диагноза проводят цитологическое и гистологическое исследования костного мозга. В миелограмме при

апластической анемии отмечается гипоклеточность, выраженность которой зависит от степени тяжести заболевания. В гистологических препаратах при трепанобиопсии подвздошной кости обнаруживаются признаки жирового перерождения костного мозга. В миелограмме при V_{12} -дефицитной анемии выявляется патологическое мегалобластическое кроветворение, в гистологических препаратах патология не обнаруживается. Динамика гематологических показателей (нормализация количества лейкоцитов и тромбоцитов через 7-10 дней лечения препаратами витамина V_{12}) позволяют поставить правильный диагноз.

Характерные для V_{12} -дефицитной анемии изменения в периферической крови (панцитопения, макроцитоз) и костного мозга (мегалобластический эритропоэз) могут встречаться при миелодиспластических синдромах и одном из вариантов острого лейкоза (остром эритромиелозе). Правильной диагностике помогает комплексная оценка показателей периферической крови и миелограммы. Общими признаками V_{12} -дефицитных анемий и МДС являются панцитопения в периферической крови, явления дизэритропоэза и дизгранулоцитопоэза в периферической крови и костном мозге. Отличительными диагностическими признаками МДС являются: чаще нормохромный характер анемии, наличие в мазке периферической крови наряду с макроэритроцитами гипохромных микроцитов. Отмечается агранулярность и гипогранулярность цитоплазмы нейтрофилов, в некоторых случаях появляются крупные темные гранулы патологической зернистости. Присутствуют и другие признаки дизгранулоцитопоэза: пельгеризация, пикноз, гиперсегментация, полиморфизм, уродливость ядер гранулоцитов. В костном мозге встречаются многоядерные нормобласты, клетки с цитоплазматической перемычкой, так называемым цитоплазматическим мостиком. Увеличивается количество кольцевых сидеробластов. Отмечается мегалобластоидность ядер нормобластов. В костном мозге выражены морфологические признаки и дистромбоцитопоэза. Мегакарициты мелких размеров, одно- или двухъядерные. Встречаются мегакарициты с разъединенными ядрами.

В периферической крови и костном мозге могут появиться бластные клетки, количество которых варьирует в зависимости формы МДС. Может быть увеличено количество базофилов и плазматических клеток. Для подтверждения диагноза МДС используют цитогенетические и гистологические методы исследования. Учитываются результаты лечения больных препаратами витамина V_{12} и фолиевой кислоты. При МДС эти препараты неэффективны.

При V_{12} -дефицитной анемии и при остром эритромиелозе наблюдаются гиперхромная анемия, панцитопения, гемолитический синдром, гиперплазия красного ростка и наличие мегалобластов в костном мозге. Для дифференциальной диагностики этих заболеваний прежде всего учитывают их клинические проявления. Для V_{12} -дефицитной анемии характерна триада синдромов (анемический, неврологический, желудочно-кишечный), для эритромиелоза – геморрагический, инфекционный, интоксикационный, гиперпластический синдромы, оссалгии, лихорадка. При эритромиелозе в периферической крови наблюдаются: появление миелобластов, глубокая

макроцитарная анемия, наличие эритрокариоцитов с признаками дизэритропоэза, тромбоцитопения. В миелограмме – увеличение количества миелобластов, мегалобластов, угнетение нормальных ростков грануло- и тромбоцитопоэза. Тромбоцитопенический синдром часто осложняется геморрагическим диатезом.

При V_{12} -дефицитной анемии в миелограмме преобладают мегалобласты, количество бластных клеток не превышает 20%.

Общим признаком V_{12} -дефицитной анемии и пароксизмальной ночной гемоглобинурии (ПНГ, болезни Маркиафавы-Микели) является панцитопения с гемолитическим синдромом. При ПНГ отличительными диагностическими признаками являются: гипохромный характер анемии, ретикулоцитоз, отсутствие гиперсегментации ядер нейтрофилов. Имеются лабораторные признаки острого внутрисосудистого гемолиза: гипергемоглобинемия и гемоглобинурия (появление темной, почти черной мочи) за счет свободного гемоглобина, гемосидеринурия, снижение содержания гаптоглобина. Длительная гемосидеринурия приводит к снижению уровня железа в организме. Развивается гипохромная микроцитарная анемия. В миелограмме нормобластический тип кроветворения. При тяжелом течении болезни может развиться гипоплазия костного мозга. Положительные проба Хема и сахарозная проба.

При V_{12} -дефицитной анемии отсутствуют лабораторные признаки внутрисосудистого гемолиза, анемия гиперхромная, редко – нормохромная. В мазке периферической крови макроцитоз эритроцитов, возможны включения в эритроциты (тельца Жолли, кольца Кебота) гиперсегментация нейтрофилов. Содержание железа в сыворотке крови нормальное или несколько повышенное. В миелограмме мегалобластический тип кроветворения. Снижен уровень витамина V_{12} в сыворотке крови, повышен уровень метилмалоновой кислоты в крови и в моче (метилмалоновая ацидурия).

Фолиево-дефицитная анемия

Дефицит фолиевой кислоты обуславливает развитие мегалобластического типа кроветворения, гиперхромной анемии с макроцитозом эритроцитов, нередко – снижение количества лейкоцитов и тромбоцитов. Фолиево-дефицитная анемия относится к мегалобластным анемиям.

Молекула фолиевой кислоты (птероилглутаминовая кислота, витамин V_9) состоит из трех частей: птеридина, парааминобензойной и глутаминовой кислот. Фолиевая кислота – термолабильный, водорастворимый витамин. В пищевых продуктах и клетках организма содержится в виде фолатов (фолиевокислых солей). Свое название фолиевая кислота получила от лат. «folium», что означает лист. Наибольшее количество фолиевой кислоты содержится в продуктах растительного происхождения – листовых овощах (салат, шпинат, огородная зелень), фруктах, бобах, грибах, дрожжах и др., а также в продуктах животного происхождения (печень, почки, молочные продукты за исключением козьего молока). Фолиевая кислота обладает

хорошей биодоступностью (из большинства продуктов усваивается 50-70% фолатов), но при длительной термической обработке в процессе приготовления пищи разрушается более 50% фолатов. Поэтому очень важно, чтобы в пищевом рационе было достаточное количество сырых овощей, фруктов, соблюдался температурный режим приготовления пищи.

Суточная потребность в фолиевой кислоте составляет от 25-100 мкг у детей до 200 мкг у взрослых. Она повышается при беременности, лактации, в периоды усиленного роста детей. В организме содержится 5-10 мг фолиевой кислоты. Запасов фолиевой кислоты хватает на 4 месяца в случае полного прекращения поступления ее в организм, после чего развивается фолиево-дефицитная анемия.

Всасывание фолатов происходит в верхних отделах тонкой кишки (в двенадцатиперстной кишке и преимущественно в проксимальном отделе тощей кишки). После всасывания в тонкой кишке фолиевая кислота под действием фермента слизистой оболочки дигидрофолатредуктазы восстанавливается до метилтетрагидрофолата и в таком виде поступает в кровь, а затем в ткани. В тканях от метилтетрагидрофолата отщепляется метильная группа, которая связывается с ранним предшественником ДНК гомоцистеином. В результате этой реакции гомоцистеин превращается в аминокислоту метионин. При нарушении метаболизма фолиевой кислоты и витамина В₁₂ содержание гомоцистеина в крови повышается.

В плазме фолиевая кислота связывается с различными белками, поступает в печень и в быстро пролиферирующие клетки костного мозга. Печень является депо фолатов в организме. Вместе с витамином В₁₂ фолиевая кислота участвует в синтезе пиримидиновых, а также пуриновых оснований, которые входят в состав как ДНК, так и РНК. Фолиевая кислота, как и витамин В₁₂, необходима для синтеза нуклеиновых кислот, обеспечения нормального кроветворения.

Нарушение синтеза ДНК в кроветворных клетках обуславливает развитие мегалобластной анемии.

Наиболее частыми причинами дефицита фолиевой кислоты в организме являются:

1. Алиментарный дефицит
 - недостаточное поступление фолатов с пищей (мало сырых овощей, фруктов и др.)
 - длительная термическая обработка продуктов
 - вскармливание детей раннего возраста козьим молоком, использование питательных смесей, бедных фолатами
 - полное парэнтеральное питание

2. Нарушение всасывания фолатов в тонком кишечнике
 - хронические энтериты
 - диабетическая энтеропатия
 - резекция обширной части тонкого кишечника, особенно тощей кишки
 - синдром «слепой петли»

- множественные дивертикулы тонкой кишки
- тропическая спру
- глютенная энтеропатия

3. Повышенная потребность в фолатах

Физиологическая

• беременность, лактация, особенно в тех случаях, когда беременная страдала наследственной или приобретенной гемолитической анемией, а также у женщин, употреблявших до беременности противосудорожные препараты или страдающих хроническим алкоголизмом

• недоношенные дети, дети первого года жизни и пубертантного периода, т.е. периода усиленного роста детей

Патологическая

• заболевания с быстрой клеточной пролиферацией

- гематологические заболевания – гемолитические анемии (наследственный микросфероцитоз, серповидноклеточная анемия, пароксизмальная ночная гемоглобинурия, анемия при дефиците фермента глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в эритроцитах)

- онкологические заболевания – лейкозы, миелома, лимфома, карцинома

Для перечисленных заболеваний характерна быстрая пролиферация предшественников эритроцитов и других клеток костного мозга, а также эпителиальных клеток, которые не обеспечиваются необходимым для синтеза ДНК количеством фолиевой кислоты.

- состояние после трансплантации костного мозга
- воспалительные заболевания: ревматоидный артрит, болезнь Крона
- эксфолиативный дерматит

4. Нарушение метаболизма

Наследственное

• дефицит ферментов, участвующих в обмене фолиевой кислоты (дефицит активности дегидрофолиевой редуктазы; дефицит активности формиминотрансферазы; дефицит активности метилтетрагидрофолиевой редуктазы и др.). Встречается редко.

Приобретенное

• прием некоторых лекарственных препаратов, которые являются антагонистами фолиевой кислоты

- цитостатики: метотрексат, цитозар, циклофосфан, 6-меркаптопурин, гидроксимочевина

- противосудорожные средства: фенитоин, карбамезепин, фенобарбитал, циклосерин, дифенин

- антибиотики широкого спектра действия

- сульфасалазин

- препарат для лечения гиперлипидемии (холестирамин)

- пероральные контрацептивы

• алкоголизм

• заболевания печени

5. Истощение запасов в печени

- цирроз
- гепатоцеллюлярный рак
- алкоголизм

6. Повышенная потеря фолатов из организма

- сердечная недостаточность с застойными явлениями
- гемодиализ
- эксфолиативный дерматит

Дефицит фолатов – одна из важных причин анемии у беременных (встречается в 1/3 случаев). Развитие дефицита фолатов при беременности обусловлено 4-10-кратным увеличением ежедневной потребности в них, особенно в последнем триместре, при их относительно небольших запасах в организме. Недостаток фолиевой кислоты в организме беременной женщины может привести к незаращению нервной трубки плода. Потребность в фолиевой кислоте повышается при беременности и лактации, особенно в тех случаях, когда до беременности женщина страдала наследственной или приобретенной гемолитической анемией, а также у женщин, употреблявших до беременности противосудорожные препараты или страдающих хроническим алкоголизмом.

Дефицит фолиевой кислоты наблюдается у новорожденных детей при недоношенности, при вскармливании детей раннего возраста козьим молоком (оно в 6 раз беднее фолиевой кислотой, чем коровье), использовании питательных смесей, бедных фолатами.

Развитию дефицита фолиевой кислоты при синдроме «слепой петли» и при множественных дивертикулах тонкой кишки может способствовать утилизация фолатов большим количеством бактерий, конкурирующих с хозяином за фолиевую кислоту. Дефицит фолатов при обширной резекции тощей кишки является результатом уменьшения зоны абсорбции.

Мальабсорбция фолиевой кислоты, связанная с атрофией ворсинок слизистой оболочки кишечника, наблюдается при спру («тропический понос») и глютенной энтеропатии (обусловлена повышенной чувствительностью к глютену – компоненту злаковых продуктов). Оба заболевания характеризуются общей слабостью, снижением массы тела, стеаторреей. В ряде случаев у больных развивается мегалобластная анемия.

Спру – заболевание, эндемичное для тропических стран. Возбудитель заболевания до настоящего времени не идентифицирован. Предполагают персистенцию одновременно нескольких штаммов колибактерий, которые продуцируют энтеротоксины, отличающиеся от энтеротоксинов при остро развивающейся диарее. Обычно заболевают путешественники, которые попадают в эндемичную зону и остаются в ней не менее года. Первыми проявлениями заболевания являются диарея, анорексия, вздутие живота, выраженная астения иногда на фоне лихорадки. Через несколько недель, иногда

месяцев у больного появляется глоссит, стоматит, снижается масса тела, сохраняется слабость. Развивается фолиево-дефицитная анемия, вызванная нарушением абсорбции фолиевой кислоты. Через более длительный промежуток времени может присоединиться и дефицит витамина В₁₂, у больного развивается тяжелая мегалобластная анемия. При своевременно начатом лечении прогноз благоприятный, однако, для полного восстановления необходимо не менее 6 месяцев.

Глютеновая энтеропатия (целиакия у детей и нетропическая спру у взрослых) обусловлена повышенной чувствительностью к глютену (протеин, который содержится в пшенице и других злаках). Механизм заболевания окончательно не выявлен, но несомненно в нем участвует иммунный компонент, так как характерна продукция антител к компонентам глютена. Заболевание проявляется стеаторреей, вздутием живота, снижением массы тела. Может развиваться гипокальциемия с тетанией и деминерализацией костной ткани, проявляющейся болью в костях и патологическими переломами. У 90 % больных обнаруживается дефицит фолатов. В основе лечения лежит диета с исключением глютена.

Мегалобластная анемия развивается примерно у 30% больных, страдающих хроническим алкоголизмом.

У больных эксфолиативными дерматитами также наблюдается дефицит фолиевой кислоты, так как фолаты теряются со слущившимися клетками эпителия. Назначение таким больным фолиевой кислоты с целью профилактики предотвращает развитие мегалобластной анемии.

У больных с хронической почечной недостаточностью при гемодиализе фолаты не связываются с белками плазмы и легко удаляются, что приводит к развитию дефицита фолиевой кислоты.

Клинические проявления дефицита фолиевой кислоты. Дефицит фолиевой кислоты чаще встречается у детей, лиц молодого возраста, беременных женщин. Появляются признаки анемического синдрома: бледность, субиктеричность кожи, одышка, тахикардия и др. В отличие от В₁₂-дефицитной анемии у больных крайне редко бывает глоссит, отсутствуют атрофические изменения в желудке, неврологические нарушения (парестезии, чувство онемения, ползания мурашек в конечностях, снижение чувствительности и др.).

Общий анализ крови. Гиперхромная анемия, в мазке периферической крови анизоцитоз за счет макроцитов, могут быть единичные мегалоциты. В эритроцитах возможны включения (тельца Жолли, кольца Кебота, базофильная зернистость). Число ретикулоцитов снижено. Лейкопения, сдвиг лейкоцитарной формулы вправо (появляются нейтрофилы с гиперсегментацией ядер). В периферическую кровь могут выйти из костного мозга мегалобласты, нормобласты, в их цитоплазме могут быть тельца Жолли, базофильная зернистость. Тромбоцитопения.

Миелограмма. Гиперплазия красного ростка костного мозга. Среди клеток эритропоэза мегалобласты. Макроцитоз и гиперсегментация нейтрофилов.

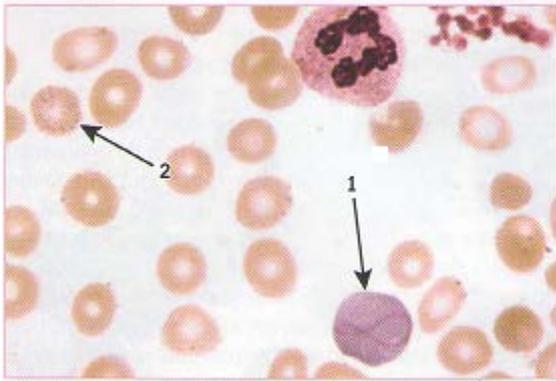
Биохимический анализ крови. Умеренная гипербилирубинемия за счет свободного билирубина (обусловлена неэффективным гемопоэзом в костном мозге и повышенным разрушением мегалоцитов в периферической крови). Снижен уровень фолиевой кислоты в сыворотке крови и эритроцитах.

При лечении фолиеводефицитной анемии в крови больных увеличивается количество ретикулоцитов, на 5-7 день развивается ретикулоцитарный криз, который свидетельствует о начале гематологической ремиссии.

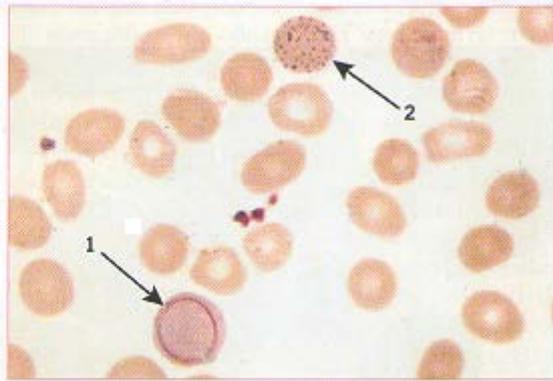
У больного с гиперхромной макроцитарной анемией и мегалобластическим типом кроветворения необходимо провести **дифференциальную диагностику между В₁₂- и фолиеводефицитной анемиями**. У больных с фолиеводефицитной анемией в анамнезе часто отмечается плохое питание, беременность, алкоголизм и др. Клинические проявления дефицита витамина В₁₂ и фолатов практически идентичны, однако различия в симптоматике все же имеются. При дефиците фолиевой кислоты у больных в клинической картине отсутствуют признаки глоссита и неврологической симптоматики. Для уточнения диагноза проводят дополнительные исследования: определяют содержание фолиевой кислоты в сыворотке и в эритроцитах, витамина В₁₂ – в сыворотке. При В₁₂-дефицитной анемии уровень витамина В₁₂ в сыворотке снижен, содержание фолиевой кислоты в сыворотке часто повышено, а в эритроцитах сохраняется нормальным или немного снижено. При фолиеводефицитной анемии уменьшается уровень фолиевой кислоты в сыворотке и в эритроцитах. Проводят также морфологическое исследование препаратов костного мозга, окрашенных ализарином красным. При этой окраске мегалобласты при дефиците витамина В₁₂ окрашиваются в ярко-красный цвет, а эритро- и нормобласты при нормобластическом кроветворении, а также мегалобласты при дефиците фолиевой кислоты окрашиваются не окрашиваются. Для дефицита витамина В₁₂, в отличие от дефицита фолиевой кислоты, характерно увеличение содержания в сыворотке крови и в моче метилмалоновой кислоты (метилмалоновая ацидурия). Для диагностики дефицита фолиевой кислоты можно использовать нагрузочный метод – нагрузку гистидином. При В₁₂-дефицитной анемии с мочой выводится нормальное количество формиминглутаминовой кислоты. При фолиеводефицитной анемии уровень ее значительно увеличен.

Назначение больному В₁₂-дефицитной анемией фолиевой кислоты часто приводит к улучшению гематологических показателей, однако этот ответ неполный и временный. Кроме того, при неадекватном лечении В₁₂-дефицитной анемии неврологическая симптоматика продолжает прогрессировать. На последнем этапе необходимо установить причину В₁₂-дефицитной анемии (атрофический гастрит, заболевания тонкой кишки, глистная инвазия и т.д.).

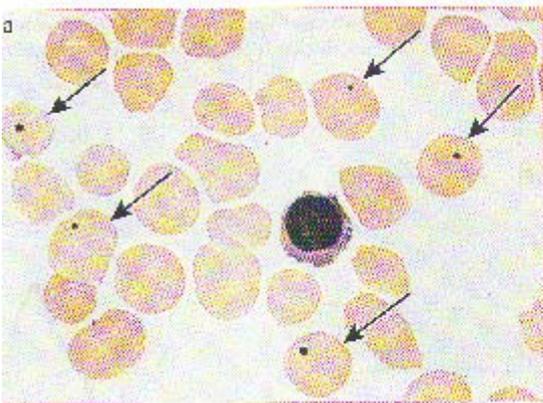
Приложение



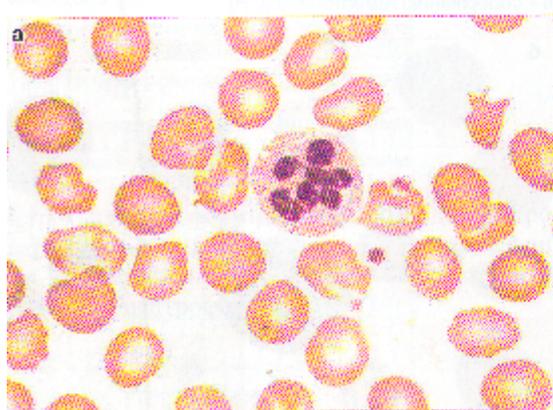
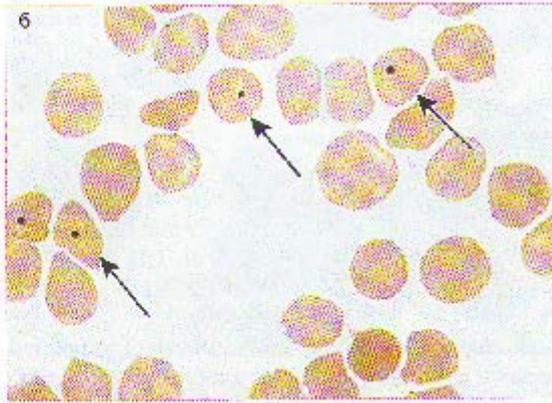
Периферическая кровь. Полихроматофильный эритроцит с кольцом Кебота (1), базофильная пунктация в эритроците (2).



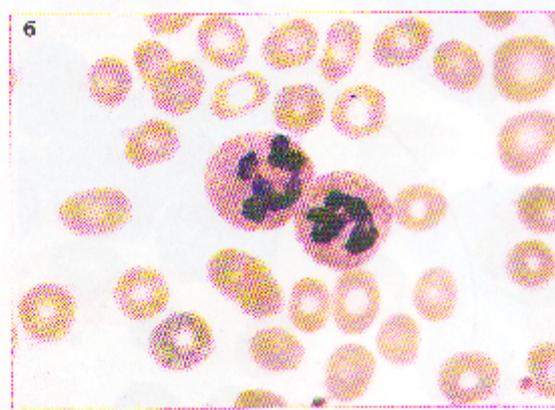
Периферическая кровь. Макроцит с кольцом Кебота (1), базофильная пунктация в эритроците (2).

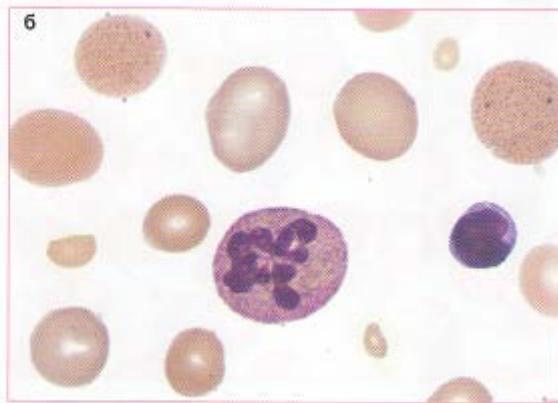


Периферическая кровь. Эритроциты с тельцами Жоли.

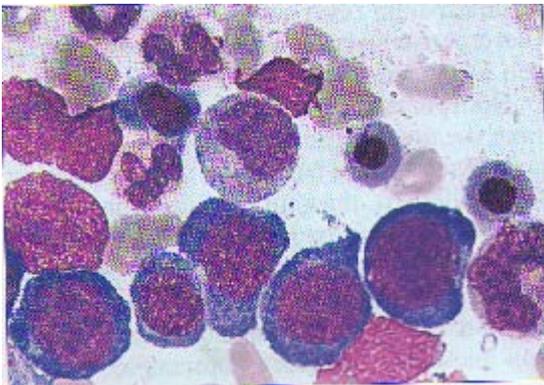


Периферическая кровь. Гиперсегментированные нейтрофилы, базофильная пунктация в эритроците при В₁₂-дефицитной анемии.

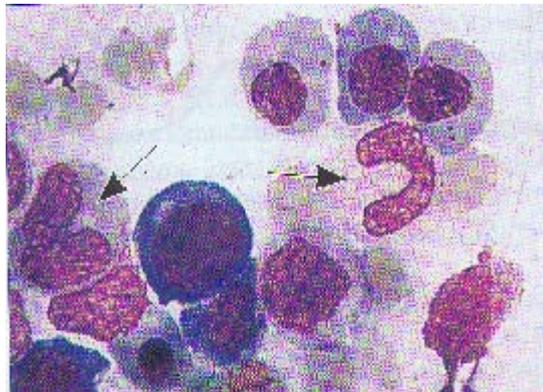




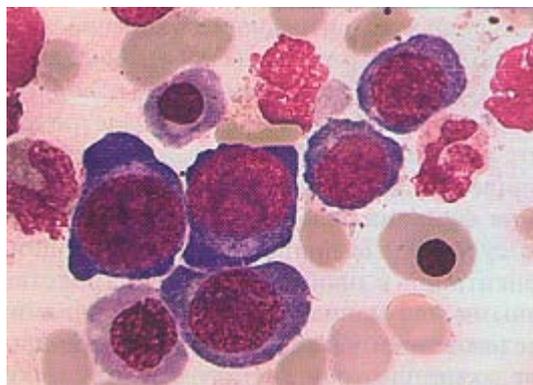
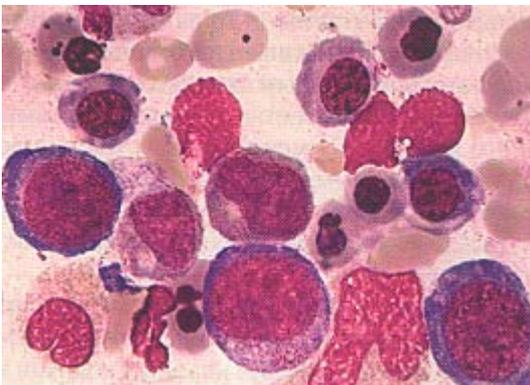
Периферическая кровь б-го Ф. Мегалобластная анемия. Макро- и мегалоциты, тельца Жолли, базофильная пунктация в эритроците, шизоциты. Гиперсегментированный нейтрофил.

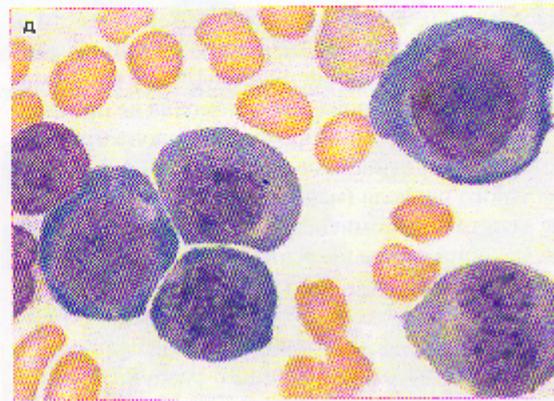
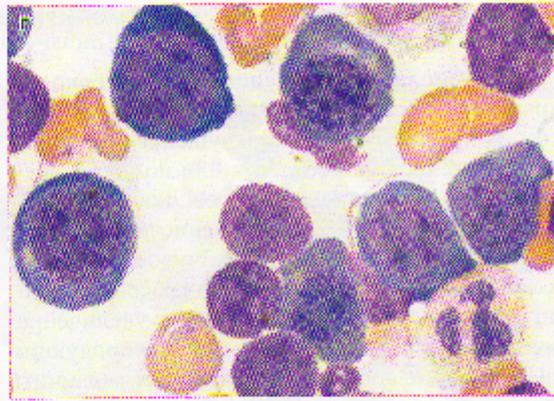
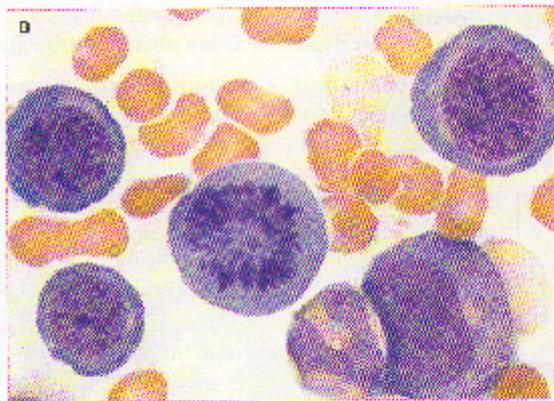
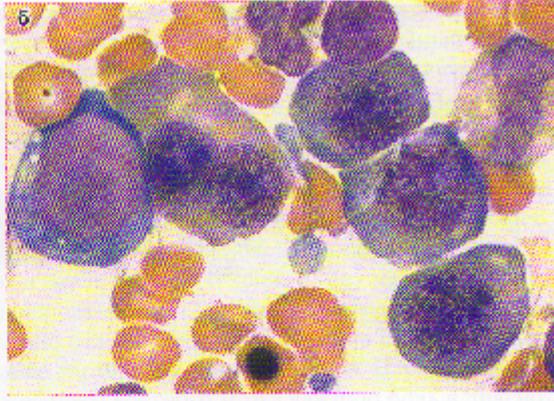
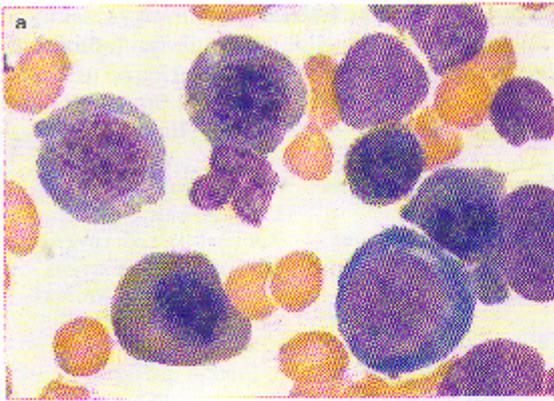


«Синий» костный мозг.
Мегалобластная анемия.



Костный мозг. Мегалобластная анемия. Гигантские палочкоядерные нейтрофилы.





Костный мозг при мегалобластных анемиях (промегалобласты, базофильные, полихроматофильные, оксифильные мегалобласты, гигантские нейтрофилы, тельца Жолли).

Список литературы:

1. Долгов В.В., Луговская С.А., Морозова В.Т., Почтарь М.Е. Лабораторная диагностика анемий. – 2-е изд., доп. – М. – Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2009. – 148 с.
2. Луговская С.А. Лабораторная гематология / С.А. Луговская и др. – М.: Изд-во ЮНИМЕД – пресс, 2002. – 120 с.
3. Луговская С.А. Гематологический атлас. – 3-е изд., доп. – М. – Тверь: Триада, 2011. – 368 с.
4. Огороков А.Н. Диагностика болезней внутренних органов.: т.4. Диагностика болезней системы крови. - М.: Медицинская литература, 2001. – 502 с.
5. Сисла Б. Руководство по лабораторной гематологии (пер. с англ. под общ. ред. А.И. Воробьева. – М.: Практическая медицина, 2011. – 352 с.
6. Стуклов Н.И., Альпидовский В.К., Огурцов П.П. Анемии. Клиника. Диагностика. Лечение. Учебное пособие для врачей. – М.

Учебное издание

Василиу-Светлицкая Светлана Георгиевна
Дальнова Тамара Сергеевна

МЕГАЛОБЛАСТНЫЕ АНЕМИИ.
ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

Учебно-методическое пособие

Ответственная за выпуск С.Г. Василиу-Светлицкая

Подписано в печать 04.02.2014. Формат 60x84/16. Бумага «Discovery».

Печать ризография. Гарнитура «Times New Roman».

Печ. л. 1,88. Уч.- изд. л. 1,38. Тираж 100 экз. Заказ 128.

Издатель и полиграфическое исполнение –

Белорусская медицинская академия последипломного образования.

Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 1/136 от 08.01.2014.

220013, г. Минск, ул. П. Бровки, 3.