Р О С С И Й С К А Я Ф Е Д Е Р А Ц И Я

Министерство здравоохранения Забайкальского края

**Государственное учреждение здравоохранения**

**КРАЕВАЯ КЛИНИЧЕСКАЯ БОЛЬНИЦА**

Коханского ул., д. 7, г. Чита, 672038 тел. 31-43-23, факс (302-2) 31-43-24

 Е-mail: okboffice@mail.ru

 №183-о «25» апреля 2016 г.

 Утверждаю

 Главный врач ГУЗ ККБ\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

 Шальнёв В.А.

**Информационное письмо**

**Лабораторная диагностика**

**В12**-**фолиеводефицитных анемий**

***Заедующая отделением клинической лабораторной диагностики , к.м.н. Л.Р. Колесниченко,***

 ***Врач клинической лабораторной диагностики А.О. Крохалева ,***

***Врач клинической лабораторной диагностики В.В. Веретельникова .***

**Лабораторная диагностика В12-фолиеводефицитных анемий.**

Гиперхромными (мегалобластными) анемиями называются анемии, связанные с нарушением синтеза ДНК и РНК, общим признаком которых является смена нормобластического типа кроветворения в костном мозге на мегалобластический. Чаще наблюдается изолированный дефицит витамина В12, реже-фолиевой кислоты. Частота встречаемости мегалобластной анемии составляет 9-10% всех случаев анемии.

***Анемии, обусловленные дефицитом В12***

**Перницио́зная анеми́я** (от [лат.](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9B%D0%B0%D1%82%D0%B8%D0%BD%D1%81%D0%BA%D0%B8%D0%B9_%D1%8F%D0%B7%D1%8B%D0%BA) *perniciosus* — гибельный, опасный) описана в 1849г Аддисоном. Несколько позже, в 1872г., Бирмер дал определение ее как «прогрессирующей пернициозной анемии». Эрлих обнаружил в костном мозге крупные клетки со своеобразной структурой хроматина и назвал их «мегалобласты». Частота встречаемости В12-дефицитной анемии увеличивается с возрастом и составляет у молодых 0,1%, пожилых-1%,после 75 лет регистрируется у 4%.

Источником поступления витамина В12  являются только продукты животного происхождения: мясо, яйца, сыр, молоко, особенно много его в печени и почках. При обычной диете человек получает в среднем от 5 до 15мкг витамина ежедневно. Суточная потребность составляет от 2 до 5мкг.

**Причины развития дефицита витамина В12:**

1. Нарушение всасывания.
* Отсутствие внутреннего фактора Кастла ( атрофический гастрит, резекция и облучение желудка, тотальная гастрэктомия).
* Заболевания тонкой кишки ( энтерит, полипоз, стриктура и т.д.).
* Лекарственные препараты ( метотрексат, фенобарбитал и т.д.) препятствуют всасыванию В12.
1. Конкурентное потребление ( дифилоботриоз).
2. Повышенная утилизация витамина В12 (злокачественные новообразования, гипертиреоз).
3. Наследственный дефицит транскобаламина II.
4. Недостаточное поступление с пищей.
5. Аутоимунные антитела к париетальным клеткам желудка и внутреннему фактору.

**Клиническая картина** включает три основных синдрома:

* **Анемический**( утомляемость, общая слабость, сердцебиение, одышка при обычной нагрузке),
* **Желудочно –кишечный** ( снижение аппетита вплоть до отвращения к пищи, потеря вкуса, боли в полости рта, расстройства стула, глоссит ( боли и жжение языка ,ощущение «ошпаренного языка», язык алого цвета с участками воспаления, сглаженными сосочками- «лакированный» язык),
* **Неврологический** ( фуникулярный миелоз: парестезии, ватность ног, онемение пальцев, изменения походки и т.д.; судорожные припадки, галлюцинации, психозы и т.д.).

***Фолиеводефицитные анемии***

В организме человека фолиевая кислота содержится в количестве 5-10 мг. Суточная потребность составляет 50-100 мкг. Фолаты синтезируются растениями и микроорганизмами. Наибольшее количество фолиевой кислоты содержится в зеленых овощах, фруктах, печени, почках, дрожжах.

**Причины развития дефицита фолиевой кислоты**

1. Снижение содержание в пищи.
* Алкоголизм, голодание, «чай с бутербродами».
* Длительная кулинарная обработка пищи.
1. Нарушение всасывания ( хронический энтероколит, резекция тонкой кишки, диабетическая энтеропатия и т.д.).
2. Повышение потребности .
* Беременность.
* Гемолиз, лейкозы, рак, гипертиреоз и т.д.).
1. Уменьшение запасов печени (цирроз, гепатоцеллюлярный рак и т.д.).
2. Лекарственные препараты (нарушение утилизации).

**Клиническая картина.**

Болеют чаще люди молодого возраста, беременные женщины. Преобладают признаки анемии (бледность кожи, тахикардия, слабость), неврологическая симптоматика несвойственна этим больным, нарушения со стороны ЖКТ незначительные. У лиц, страдающих эпилепсией и шизофренией, дефицит витамина приводит к ухудшению течения заболевания. Дефицит фолиевой кислоты увеличивает риск осложнений беременности (выкидыши, кровотечения, отслойка плаценты, недоношенность).

**Патогенез мегалобластных анемий:** витамин В12 и фолиевая кислота участвуют в реакции образования тетрафолата, необходимого для синтеза пурина и пиримидина, и образования пиримидинмонофосфата, включаемого в ДНК. Дефицит одного из этих витаминов приводит к замедлению синтеза ДНК и РНК. Данные изменения происходят практически во всех ядросодержащих клетках организма, но, в первую очередь, затрагивают гемопоэтические клетки, как обладающие наибольшей митотической активностью.В костном мозге тип кроветворения становится мегалобластическим с явлениями неэффективного эритропоэза: клетки-предшественники эритроцитов теряют способность к дифференцировке (переходу из более молодых к более зрелым формам), однако их цитоплазма развивается как и раньше в результате образуются клетки огромных размеров, называемые мегалобластами.

**Лабораторная диагностика МБА** включает в себя:

* Исследование морфологии клеток периферической крови и костного мозга.
* Общеклинический анализ крови с подсчетом всех расчетных показателей и гистограммами.
* Основные и дополнительные методы исследования.

**Костный мозг:**

Диагноз В12-дефицитной анемии , также как и фолиеводефицитной анемии, может быть установлен только при морфологическом исследовании костного мозга, которое следует проводить до начала лечения (одна инъекция витамина В12 в течение 1-2 суток может кардинально изменит картину костного мозга ).

* Костный мозг чаще гиперклеточный, полиморфный.
* Отмечается гиперплазия эритроидного ростка
* Соотношение Лейко/Эритро 1:2-1:3 ( N 3:1-4:1
* Тип кроветворения может быть мегалобластическим или мегалобластическим с элементами нормобластического с высоким уровнем неэффективного эритропоэза.

Клетки не способны синтезировать достаточное количество ДНК для клеточного деления, клеточный цикл замедляется. В результате нехватки ДНК для вступления в стадию митоза костный мозг переполняется клетками, что создает видимость повышенного эритропоэза.

Мегалобласты характеризуются крупными размерами, ядра мегалобластов всегда имеют характерное нежносетчатое распределение хроматина, асинхронное созревание ядра и цитоплазмы ( при выраженной гемоглобинизации ядро сохраняет свой незрелый вид).

Количественное соотношение между мегалобластами различной степени зрелости зависят от активности костномозгового кроветворения. Преобладание промегалобластов и базофильных мегалобластов создает картину «синего» костного мозга. Отмечаются значительные дегенеративные изменения в ядрах клеток, уродливость, многоядерность, митозы, кариорексис.

Часть мегалобластов способна к созреванию до полихроматофильных и оксифильных, превращаясь в мегалоциты, выходят в периферическую кровь.

* Гранулоцитарный росток сохранен или гипоплазирован.

Отмечаются гиганские формы гранулоцитов всех генераций, т.к. процессы нарушения созревания затрагивают и клетки этого ряда. Возможна задержка созревания на стадии миелоцитов , т.к. « материнские» миелоциты не способны к созреванию, процессы деления в них нарушены.

* Мегакариоцитарный росток обычно сохранен, в тяжелых случаях - угнетен. Отшнуровка тромбоцитов снижена (без нарушения функции).

Исследование морфологии костного мозга доступно только в условиях специализированного гематологического отделения. В остальных случаях неоценимую помощь в диагностике МБА оказывает и исследование периферической крови с помощью гематологического анализатора. Наша задача, как специалистов, популяризировать среди лечащих врачей аппаратные методы диагностики как наиболее точные и наглядные.

**Периферическая кровь:**

Результатом мегалобластического кроветворения является развитие **макроцитарной гиперхромной анемии** (концентрация Hb может снижаться до 25-40 г/л ). Количество эритроцитов резко снижается ( 1,0-1,5x1012/л ). Отмечается высокий цветовой показатель (1,1-1,4 ), увеличение среднего объема эритроцитов ( MCV>100фл ) и среднего содержания гемоглобина в эритроците (MCH>32пг ) при нормальных значениях средней концентрации гемоглобина в одном эритроците (MCHC). Эритроцитарная гистограмма смещается вправо, уплощается, растягиваясь вдоль оси X.

*Морфология эритроцитов*

Отмечается анизоцитоз с тенденцией к макроцитозу ( средний диаметр эритроцита больше 10,0 мк), встречаются мегалоциты с диаметром больше 12,0мк.Для измерения диаметра эритроцитов используется окуляр-микрометр с нанесенной измерительной шкалой. При отсутствии окуляра определить размеры эритроцитов можно, сравнив их с размерами ядер малых лимфоцитов. В норме эти размеры приблизительно равны. Также наблюдается пойкилоцитоз.

Эритроциты отличаются равномерной окраской – гиперхромные вследствие увеличения толщины клеток, без центрального просветления. Встречаются эритроциты с остатками ядерной субстанции (кольца Кебота, тельца Жолли ), базофильной пунктацией ( остатки РНК), полихроматофильные эритроциты.

*Морфология нейтрофилов и тромбоцитов*

Отмечается появление в крови гигантских и гиперсегментированных форм нейтрофилов ( количество сегментов более 5 ). У тромбоцитов возможен анизоцитоз.

**Параметры общеклинического анализа крови**

* Панцитопения.
* Анемия макроцитарная, гиперхромная.
* Лейкопения (за счет нейтропении с относительным лимфоцитозом ).
* Тромбоцитопения умеренная ( тромбоцитов редко бывает менее 100x109/л).
* Количество ретикулоцитов снижено.
* СОЭ ускорено пропорционально степени анемии (50-70 мм/ч ).

**Основные биохимические методы исследования**

* Определение концентрации витамина В12 в сыворотке крови (N 148-616 пмоль/л, старше 60 лет 81-568 пмоль/л ).
* Определение концентрации фолиевой кислоты (в сыворотки крови N 6-20нг/мл, в эритроцитахN160-640бнг/мл). Предпочтительно определение фолата в эритроцитах, т.к. этот показатель более стабилен и не подвержен резким изменениям в зависимости от количества фолиевой кислоты, поступившей в организм в данный момент.

**Дополнительные биохимические методы**

* Гомоцистеин - повышен, т.к не происходит его преобразования в метионин.
* Билирубин - незначительно повышен ( до 28-47 ммоль/л) за счет непрямого, вследствие внутрикостномозгового гемолиза.
* Железо сыворотки - до лечения в норме или незначительно повышено.

 **Мониторинг ответа на лечение**

* В костном мозге положительная динамика на вторые сутки после начала лечения.
* В периферической крови - ретикулярный криз на 5-7 день лечения.
* Снижение уровня сывороточного железа, по сравнению с исходным, свидетельствует об усилении гемопоэза.

Гематологическая ремиссия определяется нормализацией костномозгового кроветворения и показателей периферической крови. Анемия корригируется в пределах 6-12 недель. Необходимо помнить, что у больных, которым длительно проводят витаминотерапию, может со временем развиться железодефицитная анемия при нарушении метаболизма железа и активизации синтеза гемоглобина. В этих случаях отмечаются нормо - или гипохромные эритроциты (MCH>26-32пг).

Использованная литература

1. С.А.Луговская и соавт., «Лабораторная диагностика анемий», Москва, 2014 г.
2. С.А. Луговская и соавт., «Лабораторная гематология», Москва 2014 г.
3. С.А. Луговская, М.Е.Почтарь, «Гематологический атлас», Москва, 2009 г.
4. О.А.Рукавицин, «Национальное руководство. Гематология», Москва, 2015 г.