

Ретикулоциты в дифференциальной диагностике анемии и мониторинге эффективности терапии*

К.Е. Широких

аспирант кафедры молекулярной фармакологии и радиобиологии им. академика П.В. Сергеева, специалист по продукции отдела развития и обучения Компании ОМБ,

М.О. Егорова

д-р мед. наук, проф. кафедры клинической лабораторной диагностики, руководитель отдела развития и обучения Компании ОМБ

ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, г. Москва,

М.Е. Почтарь

канд. мед. наук, доцент кафедры клинической лабораторной диагностики ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования» Минздрава России, г. Москва

В обзоре представлена история становления автоматизированного подсчета клеток крови и оценки количества и морфологии ретикулоцитов, приведены основные характеристики исследования ретикулоцитов в автоматическом режиме, представлены результаты развернутой гемограммы с анализом количественных и морфологических характеристик ретикулоцитов при различных патологических состояниях.

Клинические примеры

Наиболее распространенным симптомом, сопровождающим течение различных заболеваний, является анемия. Распознавание патогенетического и этиологического варианта и дифференциаль-

* Окончание. Начало «Справочник заведующего КДЛ» 2016. № 10. С. 21–32. Рисунок 1 в первой части статьи не приводится.

ная диагностика анемий базируется на данных лабораторного исследования. Зачастую дифференциальная диагностика анемий не обходится без определения числа и характеристик ретикулоцитов.

Ниже приведен ряд результатов лабораторного исследования с комментариями согласно анамнезу по использованию расширенного клинического анализа крови для диагностики анемий у пациентов, госпитализированных в ГКБ им. С.П. Боткина в период с 2008 по 2014 г.

Исследования проводились на гематологическом анализаторе Siemens ADVIA® 2120i. Параметры общего анализа крови и референтные интервалы приведены в табл. 5.

Таблица 5

Параметры общего анализа крови и референтные интервалы отдельных показателей при использовании гематологического анализатора

Показатель		Референтные значения
WBC	Лейкоциты	4,0–9,0 × 10 ⁹ кл/л
RBC	Эритроциты	3,8–5,0 × 10 ¹² кл/л
HGB	Гемоглобин	120–160 г/л
HCT	Гематокрит	36–48%
MCV	Средний объем эритроцита	80–100 фл
MCH	Среднее количество гемоглобина в эритроците	27–31 пг
MCHC	Средняя концентрация гемоглобина в эритроците	310–380 г/л
CHCM	Средняя концентрация эритроцитарного гемоглобина	300–380 г/л
CH	Среднее количество гемоглобина	27–31 пг
RDW	Ширина распределения эритроцитов по объему (разнородность размера эритроцитов)	11,5–14,5%
% MICRO	Микроциты	< 5%
% MACRO	Макроциты	< 5%
% HIPO	Гипохромные эритроциты	< 5%
% HYPER	Гиперхромные эритроциты	< 5%
% RETIC	Относительное количество ретикулоцитов	0,2–2,0%
# RETIC	Абсолютное количество ретикулоцитов	22–139 × 10 ⁹ кл/л
MCVr	Средний объем ретикулоцитов	101–119 фл
CHCMr	Средняя концентрация гемоглобина в ретикулоцитах	230–290 г/л
CHr	Среднее количество гемоглобина в ретикулоцитах	25–30 пг
PLT	Количество тромбоцитов	180–320 × 10 ⁹ кл/л
MPV	Средний объем тромбоцитов	7,2–11,1 фл

Пример 1. Железодефицитная анемия. Регенераторная фаза

Рассмотрим результат лабораторного исследования крови пациента.

Показатель	Результат
WBC	$4,27 \times 10^9 /л$
RBC	$5,09 \times 10^{12} /л$
HGB	104 г/л
HCT	34,4%
MCV	67,5 фл
MCH	20,5 пг
MCHC	304 г/л
CHCM	313 г/л
CH	20,9 пг
RDW	20,1%
PLT	$215 \times 10^9 /л$
MPV	6,6 фл
% MICRO	33,2%
% MACRO	0%
% HIPO	19,7%
% HYPER	0,6%
% RETIC	1,44%
# RETIC	$73,1 \times 10^9 /л$
MCVr	85,3 фл
CHCMr	251 г/л
CHR	21,4 пг

Рис. 1. Мазок крови (см. приложение)

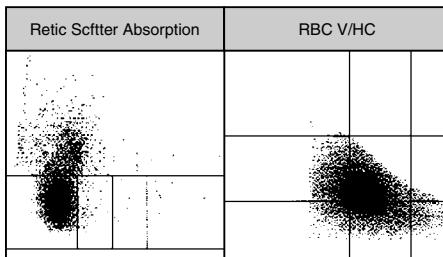


Рис. 2. Цитограмма распределения ретикулоцитов в образце цельной крови

Рис. 3. Цитограмма распределения эритроцитов по объему и концентрации гемоглобина в образце цельной крови

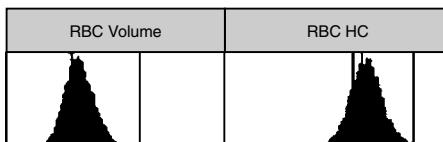


Рис. 4. Гистограмма распределения эритроцитов по объему

Рис. 5. Гистограмма распределения эритроцитов по содержанию гемоглобина

В данном клиническом примере лабораторного обследования пациента представлена нетяжелая (HGB – 104 г/л) гипохромная микроцитарная анемия (MCV, MCH, MCHC снижены). Эритроцитарная гистограмма нормальной формы, смещена влево.

Обращают на себя внимание увеличение количества макроцитов и гипохромных эритроцитов (% MICRO, % HIPO), анизоцитоз (увеличение RDW) эритроцитов. На регенераторный характер анемии (сохранение пролиферативной функции) указывают нормальное число эритроцитов (RBC) и нормальное относительное и абсолютное количество ре-

тикулоцитов (% RETIC, # RETIC). Снижение величин MCVr, CHCMr и CMr, отражающих насыщение ретикулоцитов гемоглобином, является характерным признаком железодефицитного эритропоэза.

Пример 2. Железодефицитная анемия. Гипорегенераторная фаза

Рассмотрим результат лабораторного исследования крови пациента.

Показатель	Результат
WBC	$4,25 \times 10^9 / \text{л}$
RBC	$2,50 \times 10^{12} / \text{л}$
HGB	30 г/л
HCT	12,6%
MCV	50,3 фл
MCH	12,2 пг
MCHC	242 г/л
CHCM	247 г/л
CH	12,3 пг
RDW	28,4%
PLT	$387 \times 10^9 / \text{л}$
MPV	7,2 фл
% RETIC	0,07%
# RETIC	$20 \times 10^9 / \text{л}$
MCVr	61,0 фл
CHCMr	201 г/л
CHr	12,1 пг

Рис. 6. Мазок крови (см. приложение)

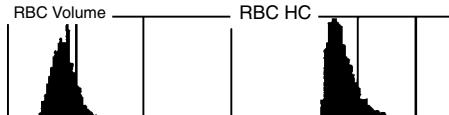


Рис. 7. Гистограммы распределения эритроцитов по размеру и содержанию гемоглобина

В данном клиническом примере отражена тяжелая (HGB – 30 г/л) гипохромная микроцитарная анемия (MCV, MCH, MCHC резко снижены). Эритроцитарная гистограмма несимметричной формы, существенно смещена влево, отмечен выраженный аизоцитоз (увеличение RDW) эритроцитов. На гипорегенераторный характер анемии (нарушение пролиферативной функции эритрокариоцитов) указывает значительное снижение числа эритроцитов (RBC) и ретикулоцитов, как относительного, так и абсолютного количества (% RETIC, # RETIC). Наблюдается значительное изменение характеристик ретикулоцитов: снижение MCVr, CHCMr и CHr.

Пример 3. Апластическая анемия

Рассмотрим результат лабораторного исследования крови пациента.

Показатель	Результат
WBC	$3,16 \times 10^9 / \text{л}$
RBC	$2,49 \times 10^{12} / \text{л}$
HGB	83 г/л
HCT	23,4%
MCV	94,0 фл
MCH	33,4 пг
MCHC	356 г/л
CHCM	359 г/л
CH	33,6 пг
RDW	23,6%
PLT	$33 \times 10^9 / \text{л}$
MPV	8,6 фл
% MICRO	3,2%
% MACRO	11,9%
% HIPO	1,9%
% HYPER	5,9%
% RETIC	0,2%
# RETIC	$22,0 \times 10^9 / \text{л}$
MCVr	135,7 фл
CHCMr	304 г/л
Chr	41,3 пг

Рис. 8. Мазок крови (см. приложение)

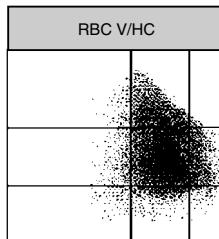


Рис. 9. Цитограмма распределения эритроцитов по объему и концентрации гемоглобина

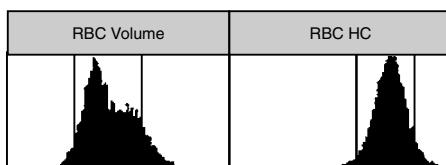


Рис. 10. Гистограмма распределения эритроцитов по размеру

Рис. 11. Гистограмма распределения эритроцитов по содержанию гемоглобина

В данном клиническом примере отражена панцитопения (лейкопения, анемия, тромбоцитопения). Анемия носит нормоцитарный нормохромный характер (MCV, MCH, MCHC в пределах нормы). Отмечается увеличение числа макроцитов (% MACRO) и гиперхромных эритроцитов (% HYPER). Относительное и абсолютное количество ретикулоцитов на нижней границе нормы.

Пример 4. Наследственная микросфеноцитарная гемолитическая анемия

Рассмотрим результат лабораторного исследования крови пациента.

Показатель	Результат
WBC	$7,30 \times 10^9 / \text{л}$
RBC	$3,26 \times 10^{12} / \text{л}$
HGB	113 г/л
HCT	31,2%
MCV	95,8 фл
MCH	34,7 пг
MCHC	362 г/л
CHCM	403 г/л
CH	38,2 пг
RDW	17,2%
PLT	$322 \times 10^9 / \text{л}$
MPV	7,7 фл
% MICRO	0,9%
% MACRO	6,4%
% HIPO	0,1%
% HYPER	34,3%
% RETIC	5,33%
# RETIC	$173,5 \times 10^9 / \text{л}$
MCVr	105,6 фл
CHCMr	363 г/л
CHr	38,1 пг

В представленном примере анемия носит нормохромный нормоцитарный характер (MCV, MCH, MCHC в пределах нормы). Обращает на себя внимание увеличение средней концентрации эритроцитарного гемоглобина (CHCM) и числа гиперхромных эритроцитов (% HYPER). Относительное и абсолютное количество ретикулоцитов повышенено. Концентрация и содержание гемоглобина в ретикулоцитах повышенны. Дополнительно при микроскопии мазков крови выявлен выраженный микросфероцитоз. Диагноз подтвержден тестом на связывание эозин-5-малеимида методом проточной цитофлуориметрии. Средняя интенсивность (Mean) флюоресценции эритроцитов пациентки, окрашенных эозин-5-малеимидом, значительно снижена.

Рис. 12. Мазок крови (см. приложение)

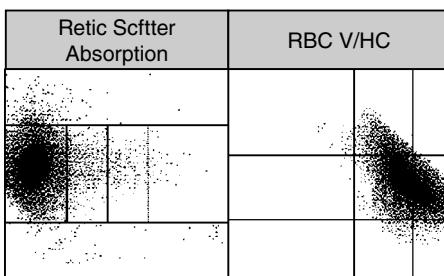


Рис. 13. Цитограмма распределения ретикулоцитов

Рис. 14. Цитограмма распределения эритроцитов по объему и концентрации и гемоглобина

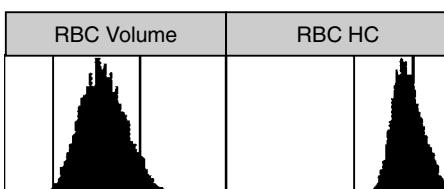


Рис. 15. Гистограмма распределения эритроцитов по размеру

Рис. 16. Гистограмма распределения эритроцитов по содержанию гемоглобина

Пример 5. Гемолитико-уреомический синдром

Девочка 6 лет госпитализирована в инфекционное отделение в связи с остро возникшей диареей, на фоне которой остро развились анемия, тромбоцитопения и острая почечная недостаточность.

Показатель	Результат
WBC	$7,51 \times 10^9/\text{л}$
RBC	$2,30 \times 10^{12}/\text{л}$
HGB	62 г/л
HCT	18,0%
MCV	75,6 фл
MCH	25,9 пг
MCHC	343 г/л
CHCM	370 г/л
CH	27,1 пг
RDW	30,7%
PLT	$29 \times 10^9/\text{л}$
MPV	9,7 фл
% MICRO	24,1%
% MACRO	6,1%
% HIPO	7,4%
% HYPER	
% RETIC	14,89%
# RETIC	$354,1 \times 10^9/\text{л}$
MCVr	109,7 фл
CHCMr	295 г/л
CHR	32,2 пг

Рис. 17. Мазок крови (см. приложение)

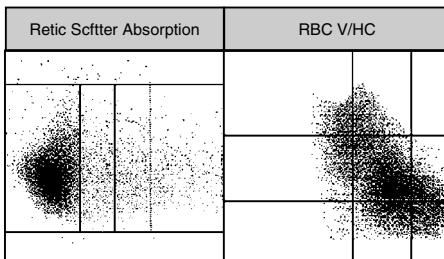


Рис. 18. Цитограмма распределения ретикулоцитов

Рис. 19. Цитограмма распределения эритроцитов по объему и концентрации гемоглобина

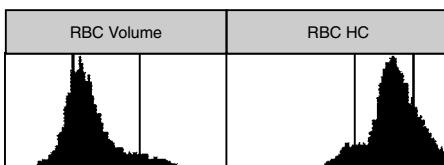


Рис. 20. Гистограмма распределения эритроцитов по размеру

Рис. 21. Гистограмма распределения эритроцитов по содержанию гемоглобина

В результате лабораторного исследования крови отражена анемия, тромбоцитопения. Анемия носит гипохромный микроцитарный характер (MCV, MCH снижены, MCHC в пределах нормы). Обращает на себя внимание увеличение количества микроцитов (% MACRO) и гиперхромных эритроцитов (% HYPER), что находит свое подтверждение при микроскопии окрашенных мазков в виде выраженного шизоцитоза и наличия микросфеноцитов. Выраженный гемолиз подтверждается резким повышением относительного и абсолютного количества ретикулоцитов. Концентрация и содержание гемоглобина в ретикулоцитах повышенны.

Пример 6. Аутоиммунная гемолитическая анемия на фоне димфопролиферативного заболевания

При лабораторном исследовании крови получены следующие результаты.

Показатель	Результат
WBC	$14,56 \times 10^9 / \text{л}$
RBC	$2,54 \times 10^{12} / \text{л}$
HGB	88 г/л
HCT	25,8%
MCV	101,4 фл
MCH	34,7 пг
MCHC	342 г/л
CHCM	372 г/л
CH	36,8 пг
RDW	22,5%
PLT	$310 \times 10^9 / \text{л}$
MPV	8,1 фл
% MICRO	1,3%
% MACRO	17,8%
% HIPO	8,4%
% HYPER	32,3%
% RETIC	24,22%
# RETIC	$615,8 \times 10^9 / \text{л}$
MCVr	125,1 фл
CHCMr	306 г/л
CHr	37,9 пг

В представленном примере отражен лейкоцитоз, связанный с наличием лимфопролиферативного заболевания. Анемия носит макроцитарный гиперхромный характер (MCV, MCHены, MCHC в пределах нормы). Макроцитоз (увеличение % MACRO и % HYPER) обусловлен выраженным сфероцитозом эритроцитов, что подтверждено микроскопией окрашенных препаратов. Отмечается значительный анизоцитоз эритроцитов (RDW увеличено). Относительное и абсолютное количество ретикулоцитов (% RETIC и # RETIC) резко повышены, что свидетельствует о значительном напряжении эритропоэза. Концентрация и содержание гемоглобина в ретикулоцитах (CHCMr и CHr) резко повышены.

Рис. 22. Мазок крови (см. приложение)

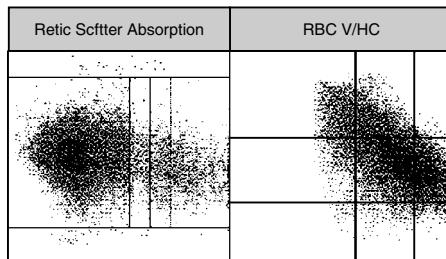


Рис. 23. Цитограмма распределения ретикулоцитов

Рис. 24. Цитограмма распределения эритроцитов по объему и концентрации гемоглобина

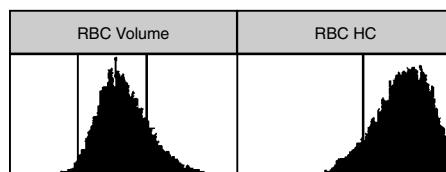


Рис. 25. Гистограмма распределения эритроцитов по размеру

Рис. 26. Гистограмма распределения эритроцитов по содержанию гемоглобина

Диагноз «аутоиммунная гемолитическая анемия» подтвержден данными биохимического исследования (гипербилирубинемия, повышение АСТ, значительное повышение ЛДГ) и положительной прямой пробой Кумбса.

Пример 7. Мегалобластная анемия

Рассмотрим результат лабораторного исследования крови пациента.

Показатель	Результат
WBC	$3,8 \times 10^9 / \text{л}$
RBC	$1,03 \times 10^{12} / \text{л}$
HGB	45 г/л
HCT	12,7%
MCV	123,7 фл
MCH	43,5 пг
MCHC	352 г/л
CHCM	362 г/л
CH	44,6 пг
RDW	21,5%
PLT	$111 \times 10^9 / \text{л}$
MPV	9,5 фл
% MICRO	1,7%
% MACRO	54,0%
% HIPO	0,4%
% HYPER	3,2%
% RETIC	1,38%
# RETIC	$17,0 \times 10^9 / \text{л}$
MCVr	125,1 фл
CHCMr	306 г/л
CHr	37,0 пг

Рис. 27. Мазок крови (см. приложение)

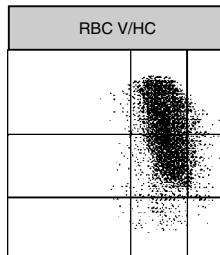


Рис. 28. Цитограмма распределения эритроцитов по объему и концентрации гемоглобина

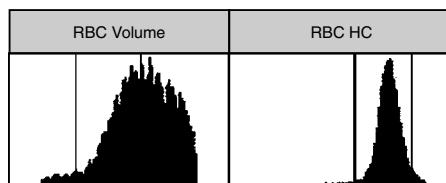


Рис. 29. Гистограмма распределения эритроцитов по размеру

Рис. 30. Гистограмма распределения эритроцитов по содержанию гемоглобина

В представленном примере отражена панцитопения (снижение WBC, RBC, HGB и PLT), характерная для мегалобластной анемии. Анемия носит макроцитарный гиперхромный характер (MCV и MCHены, MCHC в пределах нормы), значительно увеличено число макроцитов (% MACRO повышен), выраженный анизоцитоз эритроцитов (RDW увеличен). Относительное и абсолютное количество ретикулоцитов снижены. Концентрация и содержание гемоглобина в ретикулоцитах повышены.

Пример 8. Мегалобластная анемия на фоне терапии препаратами витамина B12

Рассмотрим результат лабораторного исследования крови пациента.

Показатель	Результат
WBC	$2,98 \times 10^9 / \text{л}$
RBC	$1,9 \times 10^{12} / \text{л}$
HGB	79 г/л
HCT	24,2%
MCV	127,2 фл
MCH	41,5 пг
MCHC	326 г/л
CHCM	335 г/л
CH	42,6 пг
RDW	21,9%
PLT	$104 \times 10^9 / \text{л}$
MPV	11,1 фл
% MICRO	4,4%
% MACRO	17,6%
% HIPO	2,9%
% HYPER	5,8%
% RETIC	19,85%
# RETIC	$379,7 \times 10^9 / \text{л}$
MCVr	106, 9 фл
CHr	34,0 пг

Рис. 31. Мазок крови (см. приложение)

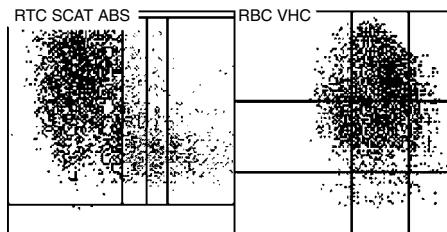


Рис. 32. Цитограмма распределения ретикулоцитов

Рис. 33. Цитограмма распределения эритроцитов по объему и концентрации гемоглобина

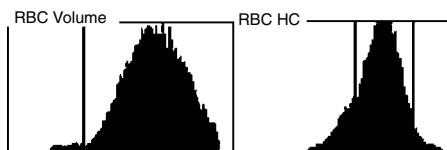


Рис. 34. Гистограмма распределения эритроцитов по размеру

Рис. 35. Гистограмма распределения эритроцитов по содержанию гемоглобина

Отмечаются панцитопения, макроцитарная гиперхромная анемия с выраженным анизоцитозом и повышением числа макроцитов – характерные черты мегалобластной анемии. В ответ на проводимую терапию произошли изменения в результатах исследования крови (не представленные выше): значительно увеличилось относительное и абсолютное количество ретикулоцитов, в то же время остались повышенными концентрация и содержание гемоглобина в ретикулоцитах.

Клиническая лабораторная диагностика сегодня претерпевает процесс централизации, направленный на сокращение затрат на оснащение многочисленных лечебных учреждений. Такой подход не должен ухудшить результат, предоставляемый

врачу клинической практики для принятия решения о скорейшей помощи пациенту. Полнота картины лабораторного обследования зависит от многих факторов: сбора анамнеза, полноценной передачи информации с использованием медицинской и лабораторной систем, привлечения накопленных технических возможностей реализации лабораторного обследования. В том числе важно уделять внимание каждому компоненту результата развернутого гематологического анализа, получаемого из капли крови пациента в течение 3–5 мин. Представленные выше результаты развернутой гемограммы при различных заболеваниях демонстрируют актуальность оценки не только стандартной «тройки» гематологических тестов, но и информативность контроля количества и морфологии ретикулоцитов.

Список использованной литературы

1. Блиндарь В.Н., Зубрихина Г.Н., Матвеева И.И., Кущинский Н.Е. Гематологические методы исследования. Клиническое значение показателей крови: руководство для врачей. М.: Медицинское информационное агентство, 2013. 73 с.
2. Воробьев А.И. Руководство по гематологии. М.: Ньюдиамед, 2002. Вып. 3. 265 с.
3. Гусева С.А., Гончаров Я.П. Анемии. Киев: Логос, 2004. 410 с.
4. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. М.: Медпресс-информ, 2009. 912 с.
5. Козинец Г.И., Арутюнян Ю.С., Ашуров Г.Д. и др. Исследование системы крови в клинической практике: учебное пособие / Под ред. Г.И. Козинца, В.А. Макарова. М.: Триада-Х, 1997. 480 с.
6. Луговская С.А. Морозова В.Т., Почтарь М.Е., Долгов В.В. Лабораторная гематология. М.: «Триада», 2006. 146 с.
7. Назаренко Г.И., Кишкун А.А. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований. М.: Медицина, 2007. С. 37–38.
8. Сисла Б. Руководство по лабораторной гематологии / Под ред. А.И. Воробьева. М.: Практическая медицина. 2011. 50 с.
9. Тэмл Х., Диам Х., Хаферлах Т. Атлас по гематологии / Под ред. В.С. Камышникова. М.: МЕДпресс-информ, 2014. Вып. 2. 23 с.
10. Чертков И.Л., Воробьев А.И. Современная схема кроветворения // Проблемы гематологии и переливания крови. 1973. № 10. С. 3–13.

11. *Buttarello M., Plebani M.* Automated blood cell counts: state of the art // *Am. J. Clin. Pathol.* 2008. Vol. 130. P. 104–116.
12. *Cavill I., Kraaijenhagen R., Pradella R. et al.* In vitro stability of the reticulocyte count // *Clin. Lab. Haematol.* 1996. Vol. 18. P. 9–11.
13. *Chasis J.A., Prenant M., Leung A., Mohandas N.* Membrane assembly and remodeling during reticulocyte maturation // *Blood.* 1989. Vol. 74. P. 1112–1120.
14. *Gordon A.S., Lobue J., Dornfest B.S., Cooper G.W.* Reticulocyte and leukocyte release from isolated perfused rat legs and femurs. / Jacobson L.O. and Doyle.M. (Eds). *Erythropoiesis.* Grune and Stratton. New York. 1962. 321 p.
15. *Briggs C., Culp N., Davis B., D'Onofrio G. et all.* ICSH guidelines for the evaluation of blood cell analysers including those used for differential leucocyte and reticulocyte counting // *Int. J. Lab. Hematol.* 2014. Vol. 36. P. 613–627.
16. *Koepke J.F., Koepke J.A.* Reticulocytes // *Clin. Lab. Haematol.* 1986. Vol. 8. P. 169–179.
17. *Paediatric Haematology / Lilleyman J.* (Eds). Churchill Livingstone, London. 1992. 148 p.
18. *Makler M.T., Lee L.G., Recktenwald D.* Thiazole orange: a new dye for Plasmodium species analysis // *Cytometry.* 1987. Vol. 8. P. 568–570.
19. *Piva E., Brugnara C., Chiandetti L., Plebani M.* Automated reticulocyte counting: state of the art and clinical applications in the evaluation of erythropoiesis // *Clin. Chem. Lab. Med.* 2010. Vol. 48. P. 1369–1380.
20. *Schiffman F.J.* Hematologic pathophysiology. New York: Lippincott-Raven Publisher's, Inc., 2016. 77 p.
21. *Tatsumi N., Tsuda I., Yokomatsu Y., Im T.S., Niri M., Furota A.* Inaccuracy and imprecision of reticulocyte counting // *Osaka City Med. J.* 1989. Vol. 35. P. 39–47.
22. The Expert Panel on Cytometry of the International Council of Standardization in Haematology: ICSH Guidelines for Reticulocyte Counting by Microscopy of Supravitally Stained Preparations World Health Organization, Geneva, 1992.
23. ICSH Expert Panel on Cytometry: Proposed reference method for reticulocyte counting based on the determination of the reticulocyte to red cell ratio // *Clin. Lab. Haematol.* 1998. Vol. 20. P. 77–79.

Приложение. Мазки крови пациентов

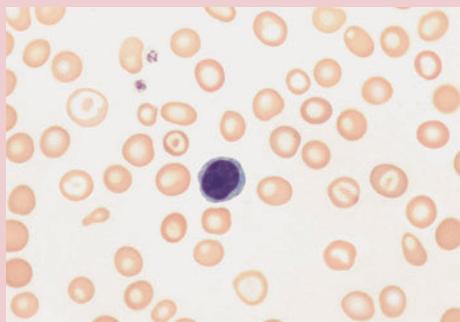


Рис. 1. Железодефицитная анемия (регенераторная фаза)

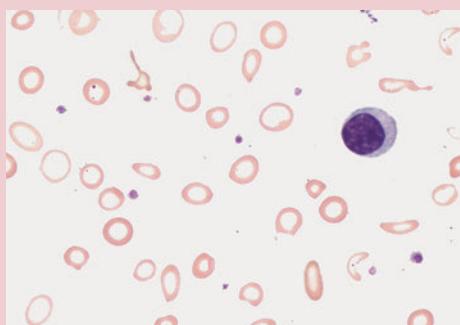


Рис. 6. Железодефицитная анемия (гипорегенераторная фаза)

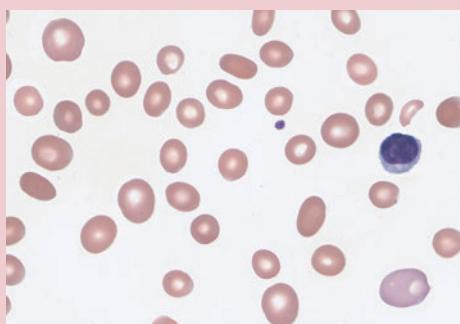


Рис. 8. Апластическая анемия

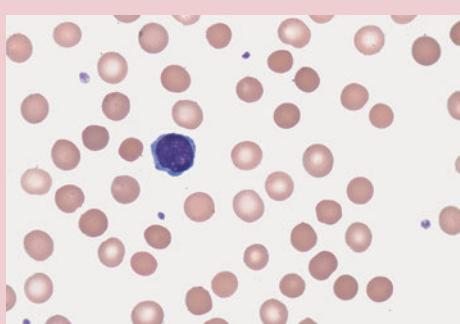


Рис. 12. Микросфероцитарная гемолитическая анемия

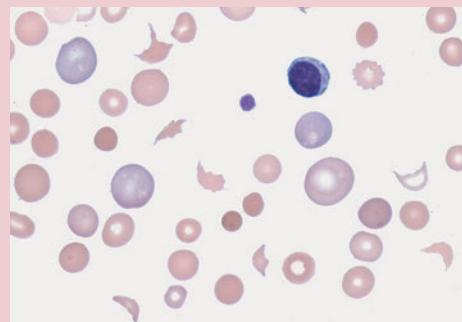


Рис. 17. Гемолитико-уремический синдром

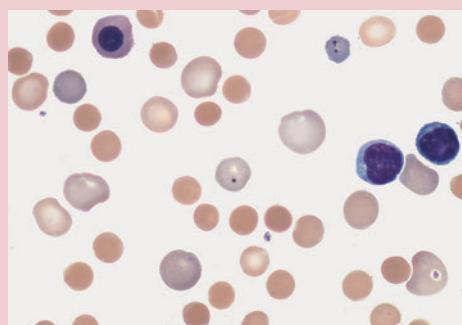


Рис. 22. Аутоиммунная гемолитическая анемия

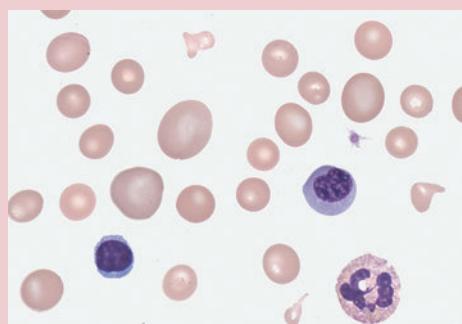


Рис. 27. Мегалобластная анемия



Рис. 31. Мегалобластная анемия на фоне терапии препаратами витамина B₁₂