

Общий клинический анализ крови: современная методология, факторы интерференции, оценка достоверности результатов

Окончание. Начало в № 5, 7.

Часть 3

Гемоглобин, эритроциты, эритроцитарные индексы

Для оценки достоверности измерения показателей красной крови необходимо помнить, что гематологические анализаторы определяют концентрацию эритроцитов (RBC), их средний объем (MCV) и/или гематокрит (HCT) в присутствии лейкоцитов. Концентрация RBC есть не что иное, как сумма RBC и WBC, а MCV отражает средний клеточный объем лейкоцитов и эритроцитов. Уровень гемоглобина измеряется в фотометрическом узле анализатора, остальные параметры (MCH, MCHC, RDW) являются расчетными. Ошибочный подсчет любого из измеряемых показателей ОАК всегда ведет к неправильным расчетным индексам эритроцитов. Поэтому, получив какие-либо отклонения в результатах ОАК, прежде всего необходимо исключить ошибки подсчета, а затем оценивать патофизиологическое значение. Чем больше дополнительных параметров может предоставить прибор, тем больше имеется возможностей для оценки корректности результатов.

Ошибки измерения гемоглобина

Для измерения уровня гемоглобина используются различные модификации цианметгемоглобинового метода. Как известно, в физиологических условиях гемоглобин в той или иной степени связан с кислородом и углекислым газом; у обоих типов молекулы (оксигемоглобина и карбоксигемоглобина) сопоставимый, но не одинаковый пик абсорбции при фотометрическом измерении. При добавлении определенных реагентов гемоглобин высвобождается из связи с газами крови и преобразуется в стабильную форму (гемиглобинцианид), имеющую достаточно узкий пик абсорбции, что позволяет точно измерять его количество. Однако присутствие в большом количестве монооксида углерода (угарного газа), связанного с гемоглобином, не позволяет его молекулам полностью трансформироваться в гемиглобинцианид; в таких случаях результаты измерения гемоглобина являются ложно завышенными. Напротив, присутствие в большом количестве сульфогемоглобина может приводить к ложно заниженным результатам.

При измерении гемоглобина рекомендуется обращать внимание на высокие уровни билирубина плазмы. В большинстве анализаторов влияние билирубина не наблюдается вплоть до концентрации 420 мкмоль/л, но более высокие значения могут приводить к ложному завышению результата. Липемия и гиперхиломикронемия также могут влиять на уровень гемоглобина, индуцируя мутность и давая завышенный результат. Такие случаи описаны у пациентов, которые получали внутривенные вливания жирных эмульсий, принимали обильную жирную пищу перед исследованием, а также при наследственных и приобретенных гиперлипидемиях (ГЛП).

Согласно литературным данным, завышенные показатели гемоглобина более характерны для I и частично V типа ГЛП. Даже самые современные анализаторы чувствительны к ГЛП, хотя и в разной степени. Для большинства из них критическими являются концентрации триглицеридов и холестерина 14,5 и 24 ммоль/л соответственно. Наличие большого количества лейкоцитов также может придавать пробе избыточную мутность, механизм интерференции которой аналогичен таковому при ГЛП. Не существует четких данных о том, каким должно быть пороговое значение лейкоцитоза, приводящего к завышению гемоглобина, настороженность

должна возникать при показателе WBC >50-100×10⁹/л. Высокий уровень иммуноглобулинов способен искажать результаты многих лабораторных тестов.

Ложное повышение гемоглобина может наблюдаться у пациентов с макроглобулинемией Вальденстрема, множественной миеломой, другими моноклональными IgM-гаммапатиями. Взаимодействуя с лизирующими агентами, иммуноглобулины образуют большое количество мономеров с измененными физико-химическими свойствами, которые придают пробе дополнительную мутность. В некоторых инструментах реализуется дополнительное разведение крови, что позволяет избежать интерференции иммуноглобулинов. Ложное завышение гемоглобина наблюдается также при криоглобулинемии, механизм интерференции которой сопоставим с таковым при гипериммуноглобулинемии; однако описан ряд случаев занижения гемоглобина, связанных, по всей видимости, с изменением текучести плазмы и нарушением аспирации пробы.

Ошибки подсчета эритроцитов и MCV

В зависимости от типа используемого анализатора некоторые факторы могут влиять на точность подсчета эритроцитов, поэтому знание технических возможностей анализатора, результатами которого пользуется врач, имеет большое значение. Важным условием измерения является правильная настройка дискриминаторов, задающих значения объемов, по которым малые эритроциты дифференцируются от крупных тромбоцитов (нижний порог), а мегалобластные формы эритроцитов — от лейкоцитов (верхний порог). Учитывая, что даже при самых экстремальных патологических состояниях MCV не превышает 150-160 фл, при подсчете эритроцитов большинство анализаторов запрограммировано игнорируют частицы с размерами более 200-300 фл. Поскольку эритроциты подсчитываются в присутствии лейкоцитов, одной из причин их ложного завышения является гиперлейкоцитоз. Концентрация лейкоцитов ≥100×10⁹/л приводит к существенному завышению RBC, особенно при выраженных анемиях. Более того, поскольку показатель MCV отражает средний объем RBC и WBC, он также может быть ложно завышенным.

Степень ошибки зависит от степени лейкоцитоза и его природы (лимфоцитоз, гранулоцитоз) и при лейкомиях с выраженной анемией может составлять 15-20 фл. В таких ситуациях на гистограмме распределения эритроцитов можно наблюдать усиление правого хвоста, формируемого, как правило, лейкоцитами, иногда кривая распределения обрывается в зоне больших объемов, не достигая оси абсцисс. Присутствие в крови большого количества гигантских тромбоцитов может привести к ложному завышению показателя RBC, поскольку они регистрируются как эритроциты, хотя ошибка в таких случаях значительно меньше, чем при гиперлейкоцитозах. Снижение MCV в этой

ситуации является более заметным явлением, особенно если приводит к превышению физиологического порога MCHC.

Холодовые антитела, которые присутствуют в крови, приводят к агрегации эритроцитов при температуре ниже +37 °C. В зависимости от установленного верхнего порога объема RBC и размера агрегатов склеенные эритроциты могут либо учитываться как макроэритроциты, либо не учитываться вообще. И в том и в другом случае это приводит к ложному занижению концентрации эритроцитов, а в первом случае — еще и к завышению MCV, так как группа из двух-трех эритроцитов будет восприниматься прибором как одна большая клетка. Для холодной агрегации эритроцитов характерна обратимость процесса, поэтому прогревание крови при +37 °C в течение 1 ч и немедленное измерение RBC и MCV на анализаторе позволяет в большинстве случаев получить правильные результаты.

Существуют данные о влиянии тепловых агглютининов на измерение RBC и MCV у пациентов с аутоиммунной гемолитической анемией, ситуация аналогична таковой с холодowymi антителами, но агрегация является необратимой и не исчезает после прогревания образца крови. Присутствие большого количества микроэритроцитов (талассемии, микросфероцитоз) также является причиной ложного занижения RBC, так как клетки объемом <36 фл будут восприниматься анализатором как тромбоциты. Показатель MCV в этих случаях будет ложно завышен.

Гемолиз является одной из основных причин ложно заниженных результатов подсчета эритроцитов и MCV. Причины гемолиза разнообразны: он может развиваться как *in vivo* (в результате посттрансфузионных осложнений, гемолитических кризов, механических повреждений эритроцитов при наличии искусственных клапанов сердца, стентов, катетеров), так и *in vitro* (при нарушении процедуры взятия крови, воздействии на образец экстремальных температур). Распознать возможный гемолиз можно по нескольким признакам. При определении скорости оседания эритроцитов (СОЭ) в капилляре отмечается розовый или красный цвет плазмы, особенно если гемоглобин плазмы >200 мг/л. Показатель средней концентрации гемоглобина в эритроцитах MCHC может значительно превышать физиологический порог (однако следует иметь в виду, что при изначально низких значениях в условиях выраженной гипохромии MCHC будет ложно нормальным). MCV снижается за счет присутствия большого количества фрагментов эритроцитарных мембран, которые могут отображаться на гистограмме распределения эритроцитов в виде хвоста в зоне малых объемов. Приборы, оценивающие CHCM, обычно демонстрируют существенную разницу между измеренной и рассчитанной концентрацией гемоглобина в эритроците и генерируют соответствующий «флаг».

Изолированное завышение MCV может наблюдаться у пациентов с умеренной и тяжелой гипергликемией или в тех ситуациях, когда взятие образца крови производится рядом с местом инфузии глюкозы. Во втором случае также наблюдается разбавление образца инфузионным раствором и снижение всех концентраций, а результат анализа соответствует макроцитарной гипохромной анемии (рис.). Феномен интерференции гипергликемии связан с тем, что глюкоза способна равномерно распределяться в водной фазе плазмы и эритроцитов как *in vivo*, так и *in vitro*. При исследовании в анализаторе в течение нескольких секунд после разведения крови изотоническим раствором вода поступает в перегруженные глюкозой эритроциты, что приводит к их набуханию и увеличению в объеме. Чувствительность приборов к гипергликемии не одинакова, но при концентрации глюкозы >20 ммоль/л MCV всегда увеличивается, а при концентрации >35 ммоль/л превышение этого показателя может достигать 50 фл. Очень важным является тот факт, что изолированное завышение MCV приводит к занижению как MCHC, так и CHCM, что отличает эту ситуацию от изложенных выше. Таким образом, при получении результатов ОАК, соответствующих макроцитарной гипохромной анемии, в первую очередь должно быть исключено влияние гипергликемии.

Аналогичные изменения результатов наблюдаются также в случаях гипернатриемии, тогда как гипонатриемия приводит к получению картины микроцитоза и гиперхромии. Использование в качестве антикоагулянта ЭДТА позволяет провести ОАК в течение 24 ч с момента получения образца без существенных погрешностей измерения. При более длительном хранении отмечается тенденция к увеличению MCV, что в сочетании с низким гемоглобином может привести к ошибочной оценке анемии как нормоцитарной (при истинном незначительном микроцитозе) или макроцитарной (при истинном нормоцитозе). При избытке антикоагулянта (недостаточном объеме крови в пробирке) описаны случаи как завышения, так и занижения MCV в зависимости от вида анализатора.

Особое значение MCHC в оценке достоверности автоматического подсчета клеток связано с тем, что этот показатель имеет верхний физиологический порог (360-370 г/л), выше которого он быть не может. Это связано со строением молекулы гемоглобина, растворимостью ее в воде и способом упаковки в эритроците. Исключение составляют такие редкие наследственные нарушения, как микросфероцитоз, сфероцитоз, носительство аномальных гемоглобинов (СС, SC, СФ). По неизвестным пока причинам применение некоторых иммуносупрессоров также может приводить к увеличению этого параметра, но никогда не более 375-380 г/л. В любых других ситуациях превышение физиологического порога MCHC следует рассматривать как маркер некорректно выполненного анализа (завышение гемоглобина и/или занижение MCV и/или занижение RBC).

Как видно из вышеизложенного, однозначного алгоритма оценки правильности выполнения автоматического ОАК не существует в силу разнообразия и разнонаправленного влияния интерферирующих факторов. Тщательное изучение цифровых и графических данных, сигналов тревоги анализатора, знание принципа измерения и расчета показателей ОАК, сопоставление результатов с клинической ситуацией, тесное сотрудничество с врачами лабораторной службы — залог адекватного использования результатов автоматического ОАК в лечебно-диагностическом процессе.

Подготовила Александра Яковец

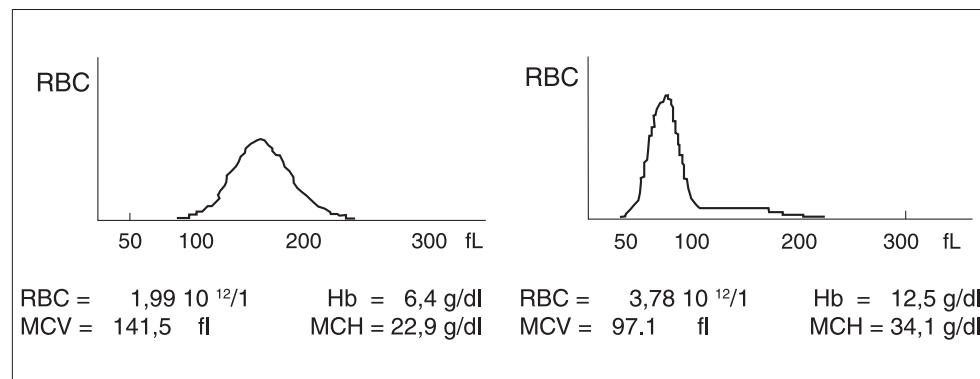


Рис. Разведение пробы крови раствором глюкозы, связанное с нарушением получения образца (слева): резко завышен MCV, резко занижен MCH, значительно снижены гемоглобин и RBC. Справа гистограмма корректно выполненного анализа