

© 2020 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Поступила 05.05.2020
Принята к печати 22.06.2020

DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-36-40

Оценка информативности расчетных эритроцитарных индексов при первичной диагностике талассемий

У.А. Маркелова, С.А. Плясунова

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

Контактная информация:

Маркелова Умида Андреевна,
врач клинико-диагностической
лаборатории ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: markelova_ua@mail.ru

Ускорение дифференциальной диагностики микроцитарных гипохромных анемий до сих пор остается актуальной проблемой. С развитием лабораторной техники появляются новые возможности для дифференциации дефицита железа и гемоглобинопатий как основных причин гипохромных микроцитарных анемий. Настоящее исследование проведено в целях оценки информативности расчетных индексов эритроцитов M, Si, M-H и M-H-RDW при первичной диагностике талассемий. Настоящее исследование поддержано независимым этическим комитетом и одобрено ученым советом ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. Обследованы 110 пациентов с микроцитарной гипохромной анемией. Материалом для исследований служила цельная венозная кровь с антикоагулянтом K₃ЭДТА. Исследование образцов крови проводилось методом проточной цитофлуориметрии на автоматическом гематологическом анализаторе Sysmex XT 4000i (Sysmex Corporation, Япония) в режиме CBC + DIFF + RET. Установлено, что с вероятностью 96,3% можно предположить наличие талассемии при первичной диагностике микроцитарной гипохромной анемии с использованием параметров автоматического гематологического анализатора при помощи расчетных индексов M, Si, M-H и M-H-RDW. Оценка их информативности в первичной диагностике талассемии показала высокую прогностическую ценность в случае одновременного изменения всех 4 индексов. Для правильной оценки и исключения ложноотрицательных результатов необходимы четкое соблюдение преаналитического этапа и наличие информации о проведенных пациенту трансфузиях эритроцитсодержащих сред.

Ключевые слова: микроцитарная гипохромная анемия, талассемия, скрининг талассемий

Маркелова У.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2020; 19 (3): 36–40.
DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-36-40

Assessment of informative value of calculated red blood cell indices in the primary diagnosis of thalassemia

U.A. Markelova, S.A. Plyasunova

Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow

Acceleration of the differential diagnosis of microcytic hypochromic anemia is still an urgent problem. With the development of laboratory technology, new possibilities appear for differentiating iron deficiency and hemoglobinopathies as the main causes of hypochromic microcytic anemia. This study was conducted to assess the information content of the calculated indices of red blood cells M, Si, M-H and M-H-RDW in the primary diagnosis of thalassemia. This study is supported by the Independent Ethics Committee and approved by the Academic Council of the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology, and Immunology. 110 patients with microcytic hypochromic anemia were examined. The material for research was whole venous blood with the anticoagulant K₃EDTA. Blood samples were studied by flow cytometry using an Sysmex XT 4000i (Sysmex Corporation, Япония) automated hematology analyzer in CBC + DIFF + RET mode. It was found that with a probability of 96.3%, it is possible to assume the presence of thalassemia in the primary diagnosis of microcytic hypochromic anemia using the parameters of an automatic hematology analyzer and calculated indices M, Si, M-H and M-H-RDW. Assessment of the information content of the calculated indices M, Si and M-H, M-H-RDW in the primary diagnosis of thalassemia showed their high predictive value in case of simultaneous changes in all 4 indices. For the correct assessment and exclusion of false negative results, a strict observance of the preanalytical stage and the availability of information on transfusions of erythrocyte-containing media carried out by the patient are necessary.

Key words: microcytic hypochromic anemia, thalassemia, thalassemia screening

Markelova U.A., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2020; 19 (3): 36–40.
DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-3-36-40

Своевременная диагностика талассемий, а также их дифференциальная диагностика с другими микроцитарными гипохромными анемиями – актуальная проблема современного мира [1, 2]. Дети с тяжелыми формами β-талассемии зачастую здоровы при рождении, однако стано-

вятся анемичными в возрасте между 3 месяцами и 2 годами. В отсутствие своевременной диагностики и адекватного лечения талассемии, а также при неоправданном использовании препаратов железа с попыткой купировать анемию большинство пациентов умирают от нее или инфекций в первые годы жизни.

Поэтому своевременная постановка диагноза имеет большое практическое значение, поскольку определяет адекватную лечебную тактику [3].

В настоящее время алгоритм диагностики талассемии состоит из нескольких этапов, включающих физикальные и лабораторные методы исследования [4]. Однако зачастую пациентам назначается слишком большое количество исследований, что влечет за собой увеличение времени на постановку диагноза и, соответственно, увеличение финансовых затрат.

В связи с этим в последнее время ряд авторов [5, 6] акцентируют свое внимание на информативности эритроцитарных индексов, рассчитываемых при помощи развернутого клинического анализа крови, применение которых позволит выявить вероятность талассемии уже на первом этапе лабораторной диагностики и проводить скрининг с выявлением групп пациентов с высокой вероятностью наличия данного заболевания. А это в свою очередь позволит избежать назначения ненужных исследований и сократит время диагностики талассемии.

По мнению Ю.И. Жиленковой [5], наиболее эффективными для диагностики и скрининга гемоглинопатий оказались индексы М (Mentzer) и Si (Sirdah). По результатам проведенного исследования, расчетные индексы при пороговых значениях $M < 11,5$ и $Si < 25$ обладали наибольшей диагностической ценностью в отношении выявления пациентов с гемоглинопатиями, сопровождающимися минимальными клинико-гематологическими проявлениями заболевания.

В другом исследовании, проведенном Е. Urrechaga [6], было показано, что наибольшей чувствительностью и специфичностью при дифференциальной диагностике микроцитарных анемий и проведении скрининга β -талассемии обладали индексы М, М-Н и М-Н-RDW. В случае индексов М-Н и М-Н-RDW пороговые значения, свидетельствующие о высоком риске талассемии, составили $> 11,5$ и $> -5,1$ соответственно [6].

Однако для расчета индексов М-Н и М-Н-RDW необходим гематологический анализатор, способный определять процент микроцитарных (MicroR) и гипохромных (HypoHe) эритроцитов. В настоящее время такими анализаторами являются Sysmex XT-4000i, XE 5000 (необходимые параметры определяются в качестве научных), анализаторы серии XN (необходимые параметры определяются в качестве рутинных), а также анализаторы Advia 2120i (Siemens, Германия).

В проведенном нами исследовании диагностика талассемии с помощью расчетных эритроцитарных индексов включала в себя алгоритм, предложенный Ю.И. Жиленковой [5], дополненный

сочетанием индексов М-Н и М-Н-RDW, предложенным Е. Urrechaga [6].

Цель исследования: оценить информативность расчетных индексов М, Si, М-Н и М-Н-RDW при первичной диагностике талассемий.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Настоящее исследование поддержано независимым этическим комитетом и одобрено ученым советом ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. В ретроспективное исследование были включены 110 пациентов (60 мальчиков и 50 девочек) различных возрастных групп (от 4 месяцев до 27 лет, медиана (Me) – 3 года), находившихся на обследовании и/или лечении в ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России в период с июня 2018 г. по июнь 2019 г. Критерием включения пациентов в данную работу являлось наличие микроцитарной гипохромной анемии при рутинном исследовании общего анализа крови.

Пациентам проводились расширенный клинический анализ крови, определение числа ретикулоцитов в крови, а также изучались результаты биохимических исследований и электрофореза фракций гемоглобина (при наличии) и данные их анамнеза, содержащиеся в медицинской документации. В качестве клинического материала для проведения гематологических исследований была использована цельная венозная кровь с антикоагулянтom K_2 ЭДТА. Исследование образцов крови проводилось методом проточной цитофлуориметрии на автоматическом гематологическом анализаторе Sysmex XT 4000i (Sysmex Corporation, Япония) в режиме CBC + DIFF + RET.

Используемые гематологические показатели представлены в *таблице 1*. Эритроцитарные индексы рассчитывали по формулам, приведенным в *таблице 2*.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программного обеспечения Microsoft Excel, а также с использованием статистической программы MedCalc v14 8.1. Сравнение рядов выполняли с использованием непараметрических методов (U-тест Манна-Уитни). Критерием статистической достоверности считали $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На основе результатов сочетания расчетных индексов и их значений все пациенты с микроцитарной гипохромной анемией были разделены на 4 группы (*рисунок 1*).

В группе 1, где обе пары индексов: М и Si, М-Н и М-Н-RDW показали высокий риск талассемии, у 26 из 27 пациентов была выявлена

Таблица 1

Используемые гематологические показатели, определяемые на гематологическом автоматическом анализаторе Sysmex XT 4000i

Table 1

Used hematological parameters, determined on a hematological automatic analyzer Sysmex XT 4000i

Показатель Indices	Расшифровка Description	Единицы измерения Units of measurement
RBC	Общее число эритроцитов Red blood cells	$\times 10^{12}/л$ $\times 10^{12}/l$
HGB	Концентрация гемоглобина Hemoglobin	г/л g/l
HCT	Значение гематокрита Hematocrit	л/л l/l
MCV	Средний объем эритроцитов в общем объеме пробы Mean corpuscular volume	фл fl
RDW-SD	Расчетная ширина распределения эритроцитов, стандартное отклонение Red cell distribution width, standard deviation	фл fl
RDW-CV	Расчетная ширина распределения эритроцитов, коэффициент отклонения Red cell distribution width, coefficient of variation	%
MCH	Средний объем гемоглобина в эритроцитах Mean corpuscular hemoglobin	пг pg
MCHC	Средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах Mean corpuscular hemoglobin concentration	г/дл g/dl
RET	Количество ретикулоцитов Reticulocytes	% и $\times 10^{12}/л$ % and $\times 10^{12}/l$
MicroR	Доля микроцитарных эритроцитов Microcytic RBCs	%
НуроHe	Доля гипохромных эритроцитов Hypochromic RBCs	%

Таблица 2

Эритроцитарные индексы, используемые для диагностики талассемий

Table 2

Erythrocyte indices used to diagnose thalassemia

Индекс Indices	Формула Mathematical formulas
M	MCV/RBC
Si	$MCV - RBC - 3 \times Hb$
M-H	% MicroR – % Нуро-He
M-H-RDW	% MicroR – % Нуро-He – RDW-CV

Примечание. Hb – гемоглобин.

Note. Hb – hemoglobin.

талассемия (малая форма β -талассемии), у 1 – железодефицитная анемия. Чувствительность объединения 2 пар эритроцитарных индексов составила 83,9%, специфичность – 97,5%.

В группе 2, где только 1 пара индексов: M и Si показала высокий риск талассемии, из 29 у 23 пациентов была обнаружена талассемия (у 17 человек малая форма β -талассемии, у 6 – α -талассемия), у 5 – железодефицитная анемия, у 1 больного диагноз неизвестен по причине недостаточного количества данных. Чувствительность – 79,3%, специфичность – 88%.

В группе 3, где только 1 пара индексов: M-H и M-H-RDW показала высокий риск талассемии, из 10 пациентов у 1 выявлена малая форма β -талассемии, у 2 – железодефицитная анемия, у 7 больных наблюдались следующие заболевания: наследственный сфероцитоз, тромбоцитопения неуточненной этиологии, синдром Нунан, первичное иммунодефицитное состояние. Чувствительность – 16%, специфичность – 83,3%.

В группе 4, несмотря на низкий риск талассемии по результатам 2 пар расчетных индексов: M и Si, M-H и M-H-RDW, из 44 пациентов у 5 все же была выявлена талассемия (2 ребенка с α -талассемией, 1 – с малой формой β -талассемии, 2 – с большой формой β -талассемии), у 11 – железодефицитная анемия, у остальных пациентов наблюдались анемии другого генеза (рисунки 1).

Следовательно, изолированное одновременное снижение расчетных индексов M и Si позволило выявить талассемию в 79,3% случаев, а изолированное одновременное повышение индексов M-H и M-H-RDW – в 10% случаев. Однако суммарное изменение 2 пар индексов в сторону высокого риска талассемии позволило выявить ее в 96,3% случаев.

Далее в результате сравнительного анализа гематологических показателей между детьми с талассемией из групп 1 и 4 было выявлено, что у пациентов с данным заболеванием из группы 4, где результаты расчетных индексов M, Si и M-H, M-H-RDW не были характерны для талассемии, наблюдалось статистически значимое повышение показателей MCV, RDW-SD, MCH, M и Si и снижение показателей RBC, HGB, MicroR, НуроHe, M-H, M-H-RDW (таблица 3).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Появление ложноотрицательного результата талассемии у детей из группы 4 можно объяснить либо более легким течением заболевания, при котором наблюдаются более высокие объемы эритроцитов и, как следствие, более высокое содержание в них гемоглобина, либо возможным нарушением преаналитического этапа, когда у пациента забор крови был осуществлен после проведенной трансфузии донорских эритроцитов. Тем самым наличие в крови пациента донорских эритроцитов с более высокими объемами и содержанием в них гемоглобина привело к увеличению показателя их анизоцитоза, снижению доли микроцитарных и гипохромных эритроцитов и, как следствие, к нехарактерным для талассемии результатам расчетных индексов M, Si, M-H и M-H-RDW.

Однако стоит принять во внимание, что при наличии большой формы β -талассемии больным необходимы регулярные заместительные трансфузии

Рисунок 1

Алгоритм диагностики талассемии при помощи расчетных индексов M и Si, M-H и M-H-RDW (диагноз «талассемия» включает в себя а- и b-талассемию)

Figure 1

An algorithm for diagnosing thalassemia using the calculated indices M and Si, M-H and M-H-RDW (diagnosis of thalassemia includes a- and b-thalassemia)

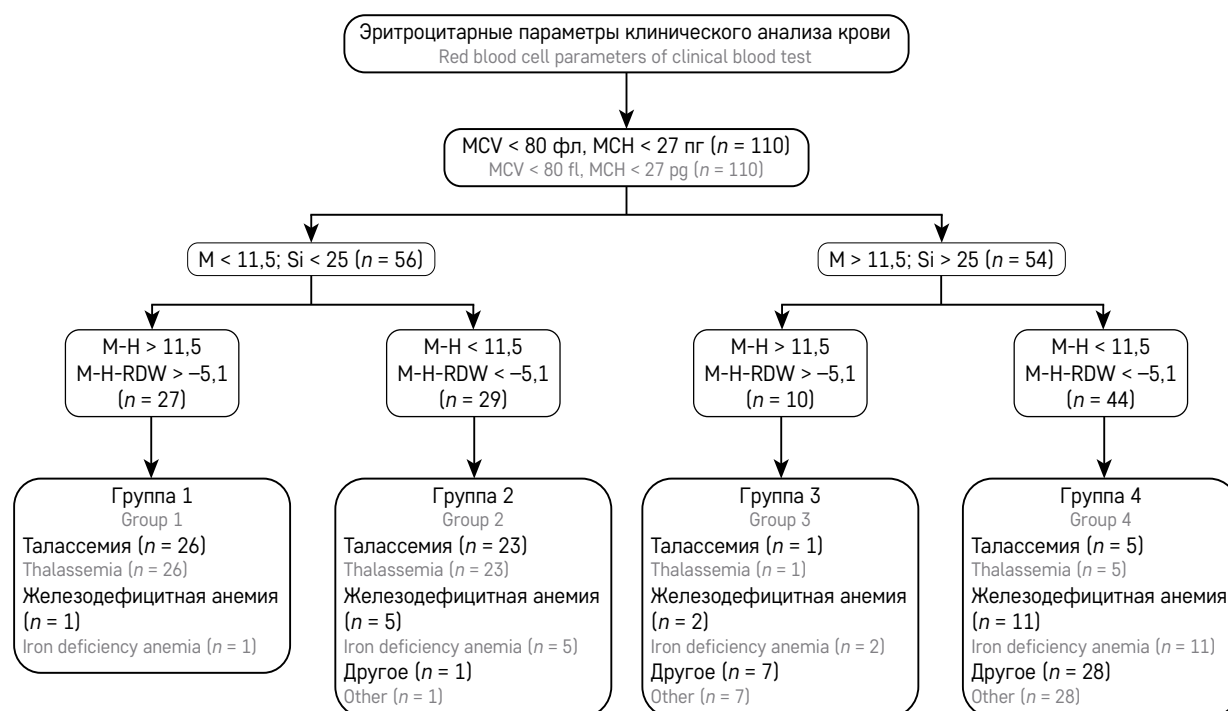


Таблица 3

Суммарный сравнительный анализ гематологических показателей между детьми с талассемией из групп 1 и 4; Me (P25–P75)

Table 3

The total comparative analysis of hematological parameters between children with thalassemia from groups 1 and 4; Me (P25–P75)

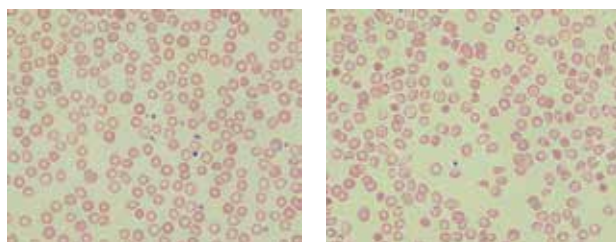
Показатель Indices	Талассемия Thalassemia		Уровень достоверности, p p-value
	группа 1 (n = 27) group 1 (n = 27)	группа 4 (n = 44) group 4 (n = 44)	
RBC, × 10 ¹² /л RBC, × 10 ¹² /l	5,7 (5,4–6,0)	4,0 (3,2–4,5)	< 0,001
HGB, г/л HGB, g/l	107 (101–108)	92 (78–103)	< 0,05
HCT, л/л HCT, l/l	31,4 (29,7–32,7)	26,2 (23,1–30,7)	Статистически незначимо Not significant
MCV, фл MCV, fl	54,2 (52,5–56,3)	70,1 (66,3–72,6)	< 0,001
RDW-SD, фл RDW-SD, fl	33,4 (31,7–35,0)	37,6 (35–39,7)	< 0,05
RDW-CV, %	18,2 (17,5–18,7)	16,0 (14,0–21,4)	Статистически незначимо Not significant
MCH, пг MCH, pg	18,4 (18–18,9)	23,8 (22,7–24,5)	< 0,001
MCHC, г/дл MCHC, g/dl	338 (332–342)	340 (332–344)	Статистически незначимо Not significant
MicroR, %	64,6 (56,3–70,7)	18,8 (14,5–25,1)	< 0,001
НуроHe, %	42,0 (33,7–47,8)	10,1 (6,6–21,5)	< 0,01
RET, %	1,0 (0,8–1,5)	1,5 (1,0–1,9)	Статистически незначимо Not significant
M	9,6 (8,7–10,4)	15,9 (15,2–22,5)	< 0,001
Si	17,5 (14,6–20,2)	35,3 (31,0–43,9)	< 0,001
M-H	21,3 (18,6–25,4)	6,2 (0,6–10,4)	< 0,001
M-H-RDW	3,0 (0,5–7,6)	-7,7 (-20,8–(-4,8))	< 0,001

Рисунок 2

Морфология эритроцитов у пациентов с талассемией из группы 1

Figure 2

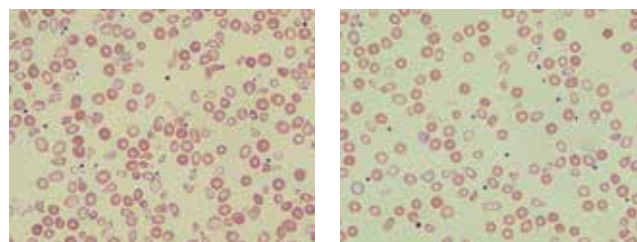
Morphology of red blood cells in patients with thalassemia from group 1

**Рисунок 3**

Морфология эритроцитов у пациентов с талассемией из группы 4

Figure 3

Morphology of red blood cells in patients with thalassemia from group 4



донорских эритроцитов, при которых последние не успевают полностью элиминироваться из кровотока, и, следовательно, не представляется возможным изучение только собственных эритроцитов пациента. Таким образом, появление ложноотрицательных результатов талассемии при расчете эритроцитарных индексов M, Si, M-H и M-H-RDW во время скрининга данного заболевания можно исключить забором крови для исследования перед проведением следующей трансфузии донорских эритроцитов и указанием даты последней проведенной трансфузии в направлении.

При сравнении морфологии эритроцитов в мазках периферической крови между пациентами с талассемией в группах 1 и 4 было выявлено, что у детей из группы 4 наблюдалось наличие популяции предположительно донорских эритроцитов, поскольку они обладали большими объемами и были более гиперхромны, а также наблюдалось меньшее количество мишеневидных эритроцитов, чем у детей из группы 1 (рисунки 2 и 3).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Оценка информативности расчетных индексов M, Si и M-H, M-H-RDW у детей с микроцитарной гипохромной анемией показала их высокую прогно-

стическую ценность. Одновременное изменение 2 пар индексов в сторону высокого риска талассемии позволяет выявить ее в 96,3% случаев. Для правильной оценки и исключения ложноотрицательных результатов необходимы строгое соблюдение преаналитического этапа и наличие информации о проведенных пациенту трансфузиях эритроцитсодержащих сред.

Применение в клинической практике современных приборов, таких как Sysmex XT-4000i, XE 5000, анализаторы серии XN (Sysmex Corporation, Япония), Siemens Advia 2120i (Siemens, Германия) с большим спектром измеряемых параметров, и расчет эритроцитарных индексов M, Si и M-H, M-H-RDW позволят значительно сократить время на постановку верного диагноза, поскольку помогут выявить риск наличия талассемии уже по результатам рутинного клинического анализа крови.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Markelova U.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9802-2483>

Plyasunova S.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4503-0735>

Литература

1. Лохматова М.Е., Сметанина Н.С., Финогонова Н.А. Эпидемиология гемоглобинопатий в Москве. Педиатрия 2008; 87 (4): 46–50.
2. Токарев Ю.Н. Гемоглобинопатии: географическое распространение, этиопатогенез, диагностика, принципы лечения и профилактика. Терапевтический архив 1998; 60: 62–6.
3. Лунова А.Г., Федорова Т.Т., Олейник Е.А., Погорелая Л.И., Кривенко Е.А., Кос-тина М.Ю. и др. Талассемии (обзор). Огляди 2013; 22 (3): 460–8.
4. Федорова Т.Т., Погорелая Л.И., Лунова А.Г. Алгоритм клиничко-лабораторной диагностики талассемий. Лабораторная диагностика. Восточная Европа 2014; 10 (2): 134–9.
5. Жиленкова Ю.И. Особенности лабораторной диагностики различных форм гемоглобинопатий. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.; 2017.
6. Urrechaga E., Borque L., Escanero J.F. The role of automated measurement of rbc subpopulations in differential diagnosis of microcytic anemia and β -thalassemia screening. Am J Clin Pathol 2011 Mar;135(3):374–9. DOI: 10.1309/AJCP-JRH1I0XTNFGA