Анализ на диагностично значими еритроцитни цитограми, получени с хематологичен анализатор ADVIA 2120

М. Велизарова, Т. Ячева и К. Цачев

Катедра по клинична лаборатория и клинична имунология, МУ – София

Analysis of diagnostic red cell cytograms, generated by the ADVIA 2120 hematology analyzer

M. Velizarova, T. Yacheva and K. Tzatchev

Department of Clinical Laboratory and Clinical Immunology, MU – Sofia

Резюме:

Лабораторният персонал обикновено е отлично запознат с интерпретацията на числените резултати, получени със съвременните хематологични анализатори, докато сложните на пръв поглед цитограми и хистограми остават игнорирани. Целта на това проучване е установяване и интерпретация на типични, диагностично значими еритроцитни (RBC) цитограми при изследване на пациенти с различни заболявания на червения ред. Анализирани са числените и графичните данни, получени при изследване на 946 (342 здрави и 620 с хематологично заболяване) пациенти с помощта на автоматичен хематологичен анализатор ADVIA 2120 (Siemens Healthcare Diagnostics Inc). Направена е оценка на вида на разпределение на еритроцитния облак според обема (V) и хемоглобинова концентрация (HC) на еритроцитите при желязодефицитна анемия, хетерозиготна и хомозиготна таласемия, мегалобластна и немегалобластна макроцитоза, двойнодефицитна анемия, посттрансфузионни промени. Еритроцитните цитограми и другите автоматични хематологични резултати са дискутирани в корелация с клиничните и биохимичните данни при изследваните пациенти.

Ключови думи: автоматични хематологични анализатори, Advia 2120, цитограми, RBC

Адрес за кореспонденция: *Д-р Милена Велизарова, Катедра по клинична лаборатория и клинична имунология, МУ, ул. „Св. Г. Софийски" № 1, 1431 София, тел. 02 92-30-916, e-mail: mvelizarova@abv.bg*

Summary:

The laboratory staff is familiar with the basic interpretation of numerical results, obtained by the automated hematology analyzers, but seemingly complex cytograms and histograms are often ignored. The purpose of this study was to identify characteristic red cell (RBC) cytogram patterns in various hematological conditions. Numerical and graphical results of the RBC data in 946 (342 healthy individuals and 620 patients with hematological diseases/conditions) were analyzed by the automated hematology analyzer ADVIA 2120 (Siemens Healthcare Diagnostics Inc). The graphical pattern of red cell distribution according to RBC volume/hemoglobin concentration (V/HC) was evaluated in iron deficiency anemia, heterozygous and homozygous thalassemia, megaloblastic and non-megaloblastic macrocytosis, dual deficiency anemia, and post-transfusion findings. Red cell cytograms and other automated results were correlated with the clinical profiles and biochemical data.

Key words: automated hematology analyzers, Advia 2120, cytogram, RBC

Address for correspondence: *Milena Velizarova, M. D., Department of Clinical Laboratory and Clinical Immunology, MU, 1, Sv. G. Sofiyski Str., 1431 Sofia, tel. +359 2 92-30-916 e-mail: mvelizarova@abv.bg*

Използвани съкращения:

CBC – Complete blood count
EDTA – Ethylediaminetetra-acetic acid
WBC – White blood cells
RBC – Red blood cells
Hb – Hemoglobin
Hct – Hematocrit
fl – femto litre
MCV – Mean corpuscular volume
MCH – Mean corpuscular hemoglobin
MCHC – Mean corpuscular hemoglobin concentration
pg – pico grams
RDW – Red cell distribution width
NRBC – Nucleated red blood cells
V/HC – Volume/Hemoglobin Concentration

ВЪВЕДЕНИЕ

Еритроцитните (RBC) цитограми (скетерграми) са неразделна част от автоматичните хематологични анализатори. Те се променят в асоциация с останалите параметри от пълната кръвна картина (CBC) при различни хематологични състояния и могат да служат за подпомагане на диагнозата и проследяване в динамика на редица клинично значими заболявания на червения кръвен ред.

Промените в RBC цитограми могат да се използват за бърза ориентация за вида на анемията, което позволява по-целенасочено и икономически по-ефективно изследване на пациентите. Така например микроцитозата и хипохромията са характерни и за желязодефицитна анемия, и за таласемия. Понякога е трудно да се разграничат двете състояния само с числените показатели от CBC [14, 15, 18], докато RBC цитограмите са достатъчно информативни и показват различно разпределение на еритроцитния облак в зависимост от еритроцитната морфология – клиновидна форма или форма на правоъгълен триъгълник при железен дефицит и форма на запетая при хетерозиготна таласемия [2, 9, 12]. RBC цитограмата при макроцитоза е различна в зависимост от причината, която е довела до промяна в еритроцитната морфология – дефицит на вит. B12 и фолати или други извънеритроцитни промени [4, 9, 11, 12, 16]. Характерни еритроцитни цитограми се установяват и при ретикулоцитоза, сфероцитоза, шизоцити, таргетни клетки, стоматоцити, студови аглутинини в пробата, както и след кръвопреливания [7, 8, 12]. Промени в еритроцитната морфология при вродена сфероцитоза, дисеминирана интраваза-лна коагулопатия (ДИК) или тромботична тромбоцитопенична пурпура, също могат да бъдат разпознати по характерните образи на RBC цитограмите [2, 5, 9, 12, 13].

Дали цитограмите са новата клетъчна морфология? Както оценката на натривки от периферна кръв, така и интерпретацията на специфичните промени в разпределението на клетките в RBC цитограмите (както и в WBC цитограмите), изискват съответно ниво на професионална квалификация. Лабораторният персонал може да бъде обучен да разпознава типичните графични образци при различни хематологични заболявания и след сравнение с числените данни да валидира резултатите на пациентите. С този подход може да се намали необходимостта от микроскопски анализ на еритроцитната морфология, което спестява време и човешки труд, особено в големите лаборатории с голямо натоварване.

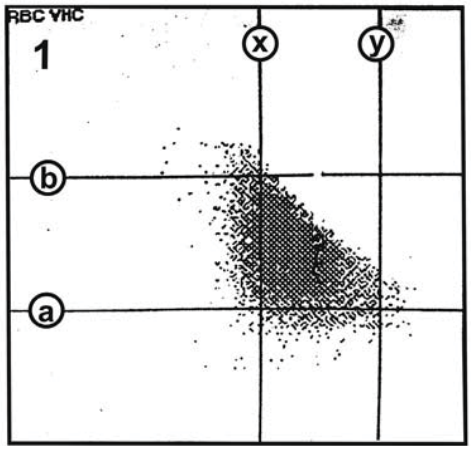
МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Дизайн на проучването

Анализирани са ретроспективно числените и графичните резултати от 962 проби (342 нормални и 620 патологични) с помощта на автоматичен хематологичен апарат ADVIA 2120 (Siemens Healthcare Diagnostics Inc). Използвана е пълна кръв с антигоагулант K_2ЕДТА, която е анализирана до 2-рия час от вземането ù. Търсени са специфични графични образци на разпределение на еритроцитния облак при най-честите клинично значими заболявания на червения ред. За верификация на диагнозата е направена корелация на хематологичните промени с биохимичните данни. Еритроцитната цитограма и числените данни от CBC в случая с хомозиготна β-таласемия (Cooley) са представени с любезното съдействие на Siemens Healthcare Diagnostics.

Принцип на автоматичния еритроцитен анализ

Еритроцитите се изброяват (след изоволемична трансформация в сферични клетки) чрез разсейване на лазерен лъч и измерване на светлинните сигнали от отклоненията под малък (2-3º) и голям ъгъл (5-15º) [1, 12]. В допълнение автоматично се построяват RBC цитограми, представящи съотношението между обем (V) и хемоглобинова концентрация (HC) в еритроцитите, т.нар. V/HC RBC цитограма (фиг. 1). Върху V/HC цитограмата, хемоглобиновата концентрация е нанесена на оста *x* с две дискриминативни стйности – 28 g/dL и 41 g/dL. Еритроцити с HC под 28 g/dL са хипохромни, а над 41 g/dL – хиперхромни. Обемът на клетката се изобразява на оста *y*, също с две дискриминативни стойности – 60 fl и 120 fl. Еритроцити с обем под 60 fl са микроцитни, докато тези с обем над 120 fl са макроцитни. При нормоцитоза и нормохромия еритроцитният облак се разполага в централната зона на V/HC цитограмата.



Фиг. 1. Схематично представяне на еритроцитна V/HC цитограма (по N. Kakkar и M. Makkar, 2009). На оста x е представена хемоглобиновата концентрация (CH) с две дискриминативни стойности – 28 g/dL (x) и y (41 g/dL). На оста y е представен обемът на еритроцитите (V) с дискриминативни стойности – 60 fl (a) и 120 fl (b)

РЕЗУЛТАТИ

Нормална еритроцитна V/HC цитограма (фиг. 2А)

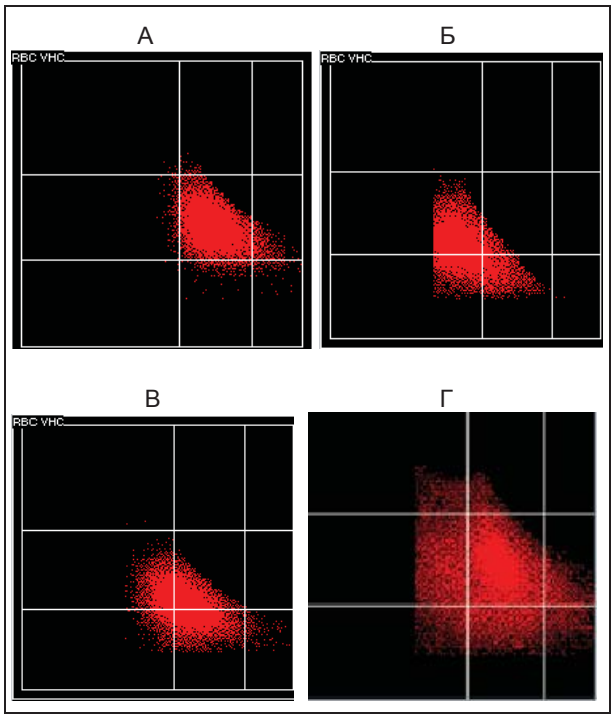
Пациент 1. Еритроцитни параметри: Hb – 157 g/l, RBC – 5,36 x 10^{12}/l, Hct – 0.45, MCV – 84,0 fl, MCH – 29,3 pg, MCHC – 349 g/l, CH – 28,4 pg, RDW – 12,2%.

В случаите с нормална клетъчна морфология (нормоцитни, нормохромни еритроцити) еритроцитният облак е компактен и се разполага в централната зона на V/HC цитограмата.

Желязодефицитна анемия (фиг. 2Б)

Пациент 2. Еритроцитни параметри: Hb – 82 g/l, RBC – 4,93 x 10^{12}/l, Hct – 0.32, MCV – 65,4 fl, MCH – 16,6 pg, MCHC – 254 g/l, CH – 15,8 pg, RDW – 18,6%.

При желязодефицитна анемия се наблюдава изместване на еритроцитната популация към микроцитната и към хипохромната област. Еритроцитната цитограма има характерна форма на правоъгълен триъгълник, разположен наляво и надолу от централната зона. Съответно еритроцитните индекси MCV и MCH са намалени, RDW е увеличен поради анизоцитозата.



Фиг. 2. А. Нормална еритроцитна V/HC цитограмата. Б. Желязодефицитна анемия. В. Хетерозиготна β-таласемия. Г. Хомозиготна β-таласемия

Хетерозиготна β-таласемия (фиг. 2В)

Пациент 3. Еритроцитни параметри: Hb – 117 g/l, RBC – 6,12 x 10^{12}/l, Hct – 0,39, MCV – 63,8 fl, MCH – 19,1 pg, MCHC – 300 g/l, CH – 19,0 pg, RDW – 14,5%.

При хетерозиготна таласемия се установяват микроцитоза и хипохромия (както при железен дефицит), но без или с минимална анизоцитоза. Еритроцитната популация е по-компактна, изместена към микроцитната и хипохромната област, с характерна форма на „запетая". С изключение на RDW, който най-често е в референтни стойности, останалите еритроцитни индекси са променени както при желязодефицитна анемия.

***Хомозиготна β-таласемия** (фиг. 2Г)*

Пациент 4. Еритроцитни параметри: Hb – 90 g/l, RBC – 3,34 x 10^{12}/l, Hct – 0,28, MCV – 81,9 fl, MCH – 26,4 pg, MCHC – 322 g/l, CH – 26,7 pg, RDW – 21,9%, NRBC – 301,6%.

При хомозиготна β-таласемия еритроцитната морфология показва значителна микроцитоза и хипохромия, както и силно изразена анизоцитоза и пойкилоцитоза. Еритроцитната цитограма е нехомогенна, изместена към микроцитната зона и разположена на по-голяма площ в сравнение с желязодефицитната анемия. Еритроцитните индекси са силно намалени, докато RDW е силно увеличено, често над 20%. Наличието на еритробласти (NRBC) в периферната кръв се отразява и на еритроцитната цитограма – забелязва се характерна сърповидна депресия в горния ù край.

***Немегалобластна макроцитоза** (фиг. 3А)*

Пациент 5. Еритроцитни параметри: Hb – 132 g/l, RBC – 3,68 x 10^{12}/l, Hct – 0,39, MCV – 108,4 fl, MCH – 35,9 pg, MCHC – 331 g/l, CH – 35,4 pg, RDW – 13,8%.

При немегалобластната макроцитоза еритроцитите са с увеличен обем (MCV е увеличено над 100 fl), но отсъстват мегалоцитоза и пойкилоцитоза (RDW е нормално или незначително променено). Липсват и хиперсегментирани неутрофили в периферната кръв. Еритроцитната цитограма е по-тясна и компактна, изместена към макроцитната област.

***Мегалобластна анемия** (фиг. 3Б)*

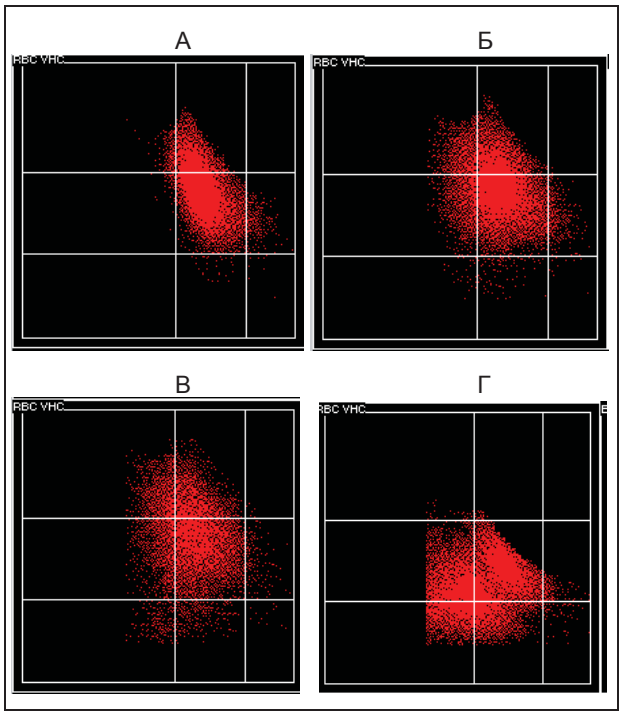
Пациент 6. Еритроцитни параметри: Hb – 105 g/l, RBC – 2.92 x 10^{12}/l, Hct – 0.32, MCV – 110.5 fl, MCH – 36.1 pg, MCHC – 327 g/l, CH – 35.5 pg, RDW – 21.2%.

При мегалобластна анемия се установяват макроцитоза с мегалоцитоза, наличие на пойкилоцитоза и анизоцитоза. В тези случаи еритрограмата е изместена в посока на макроцитната зона и е на по-широка площ в сравнение с немегалобластната макроцитоза. RDW е силно увеличено.

Двойнодефицитна анемия (фиг. 3В)

Пациент 7. Еритроцитни параметри: Hb – 52 g/l, RBC – 1,46 x 10^{12}/l, Hct – 0,20, MCV – 109,0 fl, MCH – 35,4 pg, MCHC – 324 g/l, CH – 34 pg, RDW – 22.0%.

Двойнодефицитните (диморфни) анемии се характеризират със силно изразена анизоцитоза (RDW е често над 20-25%). На еритроцитната цитограма се установява увеличена плътност на еритроцитния облак едновременно в микроцитната и в макроцитната зона. Еритроцитните индекси може да са в референтни стойности или да са променени в посока на доминиращата еритроцитна популация – микроцитоза или макроцитоза.



Фиг. 3. А. Немегалобластна макроцитоза. Б. Мегалобластна анемия. В. Двойнодефицитна (диморфна) анемия. Г. Посттрансфузионна анемия

Посттрансфузионни промени (фиг. 3Г)

Пациент 8. Еритроцитни параметри: Hb – 82 g/l, RBC – 3.90 x 10^{12}/l, Hct – 0.28, MCV – 71.2 fl, MCH – 21.0 pg, MCHC – 295 g/l, CH – 21.1 pg, RDW – 22.9%.

След хемотрансфузии обикновено се установяват две популации еритроцити – собствените и донорните. В резултат на това във V/HC цитограмата се оформят два отделни, относително самостоятелни еритроцитни облака. Ако донорните еритроцити се различават съществено по морфология от тези на реципиента, RDW значително се увеличава.

ОБСЪЖДАНЕ

Графичната информация, предоставяна от съвременните хематологични анализатори, обикновено се игнорира от специалистите поради трудности с интерпретирането ù. Повечето публикувани данни за автоматичните цитограми са свързани с оценка на разпределението на левкоцитите [6, 7, 9], особено в случаите с наличие на области при злокачествените хемопа-

тии [3, 9, 13, 17]. Много малко са изследванията, които показват диагностичното значение на еритроцитните цитограми при различни хематологични заболявания и състояния [5, 8, 12].

В това проучване бе направен ретроспективен анализ на RBC V/HC цитограмите в асоциация с числените данни от еритроцитните параметри при изследване на здрави пациенти и такива с различни заболявания на червения ред.

В табл. 1 са обсъдени специфични констелации от графични и числени промени при различните заболявания на червения кръвен ред.

Таблица 1. Специфични графични и числови промени при най-честите хематологични заболявания и състояния

Хематологично заболяване/ състояние	*Характеристики*
Желязодефицитна анемия	Анемия, ниски еритроцитни индекси, високо RDW, изместване към микроцитната хипохромна зона (наляво и надолу) на цитограмата с форма на триъгълник
Хетерозиготна β-таласемия	Анемия, ниски еритроцитни индекси, нормално или леко повишено RDW, еритроцитна цитограма под форма на „запетая"
Хомозиготна β-таласемия.	Изразена анемия, ниски еритроцитни индекси, много високо RDW, много широка RBC цитограма предимно в микроцитната зона
Немегалобластна макроцитоза	Увеличено MCV, нормално RDW, компактна RBC цитограма в макроцитната зона
Мегалобластна анемия	Анемия, увеличено MCV, увеличено RDW, широка RBC цитограма в макроцитната зона
Двойнодефицитна (диморфна) анемия	Анемия, силно увеличено RDW, широка RBC цитограма, разположена едновременно в микроцитната и в макроцитната зона
Посттрансфузионна анемия	Увеличено RDW (често > 25%), два относително самостоятелни еритроцитни облака в цитограмата

Заключение

Типичните графични образи на еритроцитно разпределение спомагат за: 1) установяване корелация с числените данни в резултатите на пациентите; 2) мониториране на аналитичната надеждност на резултатите от автоматичните анализатори; 3) насочване към евентуална клинична диагноза и проследяване на терапевтичния отговор след започнато лечение. Така например при лечението на анемиите еритроцитната цитограма може много по-точно в сравнение с числените стойности на еритроцитните параметри да ни покаже появата на нова млада еритроцитна популация.

Библиография

1. Велизарова, М., Т. Ячева и К. Цачев. Оценка на аналитичната надеждност на хематологичен анализатор ADVIA 2120: верификация и сравнение с COULTER LH 750. – Мед. преглед, 48, 2012, № 2, 36-43.
2. Advia 120 Hematology System "Technology and cytogram interpretation." Bayer Diagnostics, Tarrytown, NY, 2005.
3. Alexander, H. D. et al. Cell sizing in chronic lymphoproliferative disorders: an aid to differential diagnosis. – J. Clin. Pathol., 45, 1992, № 10, 875-879.
4. Aslinia, F., J. J. Mazza et S. H. Yale. Megaloblastic anemia and other causes of macrocytosis. – Clin. Med. Res., 4, 2006, № 3, 236-241.
5. Bourner, G., J. Dhaliwal et J. Sumner. Performance evaluation of the latest fully automated hematology analyzers in a large, commercial laboratory setting: a 4-way, side-by-side study. – Lab. Hematol., 11, 2005, № 4, 285-297.
6. Buttarello, M. Quality specification in haematology: the automated blood cell count. – Clin. Chim. Acta, 346, 2004, № 1, 45-54.
7. Buttarello, M. et M. Plebani. Automated blood cell counts – state of the art. – Am. J. Clin. Pathol, 130, 2008, № 1, 104-116.
8. Constantino, B. T. The red cell histogram and the dimorphic red cell population. – Lab. Med., 42, 2011, № 5, 300-308.
9. De Nicola, D. B. Advances in hematology analyzers. – Top Companion Anim. Med., 26, 2011, № 2, 52-61.
10. Jung, S. et al. Differential blast counts obtained by automated blood cell analyzers. – Korean J. Lab. Med., 30, 2010, № 6, 540-546.
11. Kaferle, J. et C. E. Strzoda. Evaluation of macrocytosis. – Am. Fam. Physician, 79, 2009, № 3, 203-208.
12. Kakkar, N. et M. Makkar. Red cell cytograms generated by an ADVIA 120 automated hematology analyzer: characteristic patterns in common hematological conditions. – Lab. Med., 40, 2009, № 9, 549-555.
13. Leers, M. P. et al. Performance evaluation of the Abbott CELL-DYN Ruby and the Sysmex XT-2000i haematology analysers. – Int. J. Lab. Hematol., 33, 2011, №.1, 19-29.
14. Maconi, M. et al. Erythrocyte and reticulocyte indices in iron deficiency in chronic kidney disease: comparison of two methods. – Scand. J. Clin. Lab. Invest., 69, 2009, № 3, 365-370.
15. Nadarajan, V., P. Sthaneshwar et G. I. Eow. Use of red blood cell indices for the identification of iron deficiency among blood donors. – Transfus. Med., 18, 2008, № 3, 184-189.
16. Seppä, K., P. Sillanaukee et M. Saarni. Blood count and hematologic morphology in nonanemic macrocytosis: differences between alcohol abuse and pernicious anemia. – Alcohol, 10, 1993, № 5, 343.
17. Sullivan, E. Hematology analyzer: From workhorse to thoroughbred. – Lab. Med., 37, 2006, № 5, 273-278.
18. Urrechaga, E. Clinical utility of the new Beckman-Coulter parameter red blood cell size factor in the study of erithropoiesis. – Int. J. Lab. Hematol., 31, 2009, № 6, 623-629.

Постъпила за печат на 6 април 2012 г.