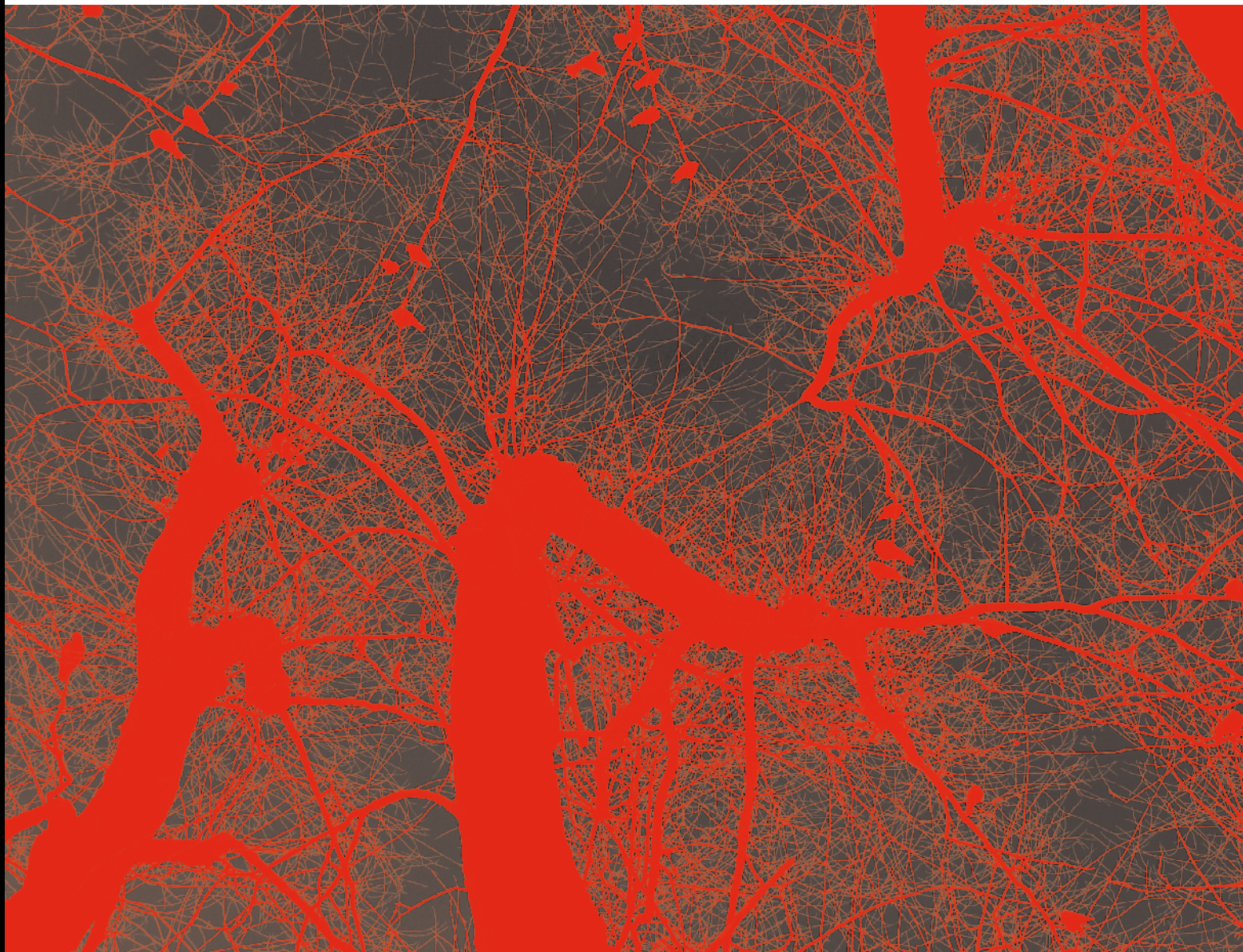




- Rola analizatorów hematologicznych w różnicowaniu krwinek białych
- Znaczenie makro- i mikrocytozy krwinek czerwonych w diagnostyce laboratoryjnej
- Jeszcze o MCV
- Płytki krwi w rutynowej diagnostyce hematologicznej
- Morfologia i co dalej

Nawet jeśli nie wszędzie jeszcze jesteśmy, to wkrótce tam będziemy...

OFERTA DLA KAŻDEGO LABORATORIUM



Micros ES60



Micros EMI CRP



Pentra 60C+



Pentra XL80



Pentra DF/DX

HORIBA
Medical

hematologia

SPIS TREŚCI

3 Rola analizatorów hematologicznych w różnicowaniu krwinek białych
Role of hematological analyzers in differentiation of white cells
Bogdan Mazur

8 Znaczenie makro- i mikrocytozy krwinek czerwonych
w diagnostyce laboratoryjnej
The importance of macro- and microcytosis of red blood cells
in the laboratory diagnostics
Aneta Wrzyszczyńska

17 Jeszcze o MCV
More about MCV
Dagna Bobilewicz, Magdalena Drzewińska, Emilia Ciach

20 Płytki krwi w rutynowej diagnostyce hematologicznej
Platelet counting in basic hematological diagnostic
Krzysztof Lewandowski

26 Morfologia i co dalej? Praktyczne aspekty rozpoznawania niedokrwistości
Full blood count. Practical aspects of FBC abnormalities
Andrzej Pluta, Krzysztof Gutkowski

36 Warto wiedzieć

Wydawca IN VITRO EXPLORER

HORIBA ABX Sp. z o.o.

Wał Miedzeszyński 598, 03-994 Warszawa

+48 22 673 20 22, +48 22 673 20 26

www.horiba-abx.com.pl

Redaktor koordynujący: Sławomir Bogusz

Konsultacja naukowa: prof. dr hab. n.med. Dagna M. Bobilewicz

Redakcja: Maria Domagała, Marta Domagała

Projekt graficzny: Aleksandra Król

Skład i łamanie: Zych Studio

ISSN 1732-9752

Nakład: 2000 egz.

maj 2012

Zasady publikowania prac w IN VITRO EXPLORER

do wglądu u p. Renaty Polkowskiej

e-mail: renata.polkowska@horiba.com

ROLA ANALIZATORÓW HEMATOLOGICZNYCH W RÓŻNICOWANIU KRWINEK BIAŁYCH

ROLE OF HEMATOLOGICAL ANALYZERS IN DIFFERENTIATION OF WHITE CELLS

Bogdan Mazur

Streszczenie

Badanie morfologii krwi jest podstawowym badaniem laboratoryjnym, które ma zastosowanie nie tylko u pacjentów z chorobami układu krwiotwórczego, ale wskazuje także na procesy chorobowe innych narządów. Zastosowanie najnowocześniejszych analizatorów hematologicznych pozwala na przeprowadzenie bardzo dokładnej analizy kilku tysięcy komórek w krótkim czasie. Należy jednak pamiętać o ograniczeniach, które dotyczą przede wszystkim próbek krwi od pacjentów z chorobami nowotworowymi, gdzie nadal i bezdyskusyjnie złotym standardem jest ręczny rozmaz krwi weryfikowany mikroskopowo.

Słowa kluczowe

Leukocyty, analizator hematologiczny, rozmaz ręczny.

Summary

Morphology is the basic laboratory test which applies not only to patients with hematological disorders but also indicates pathological processes of other organs. The application of the most modern hematological analyzers allows to conduct very thorough analysis of several thousand cells in a short time. It is necessary to remember about limited possibilities which especially relate to blood samples from patients with cancer where still and indisputably the gold standard is manual smear verified microscopically.

Key words

White cells, hematological analyzers, manual blood smear.

Badanie morfologii krwi obwodowej należy do podstawowych badań diagnostycznych i obejmuje oznaczenie liczby wszystkich komórek krwi oraz ocenę pewnych cech ich budowy. Jest ono wykonywane w pełnej krwi pobranej na antykoagulant (K_2 EDTA lub K_3 EDTA). Warunkiem uzyskania prawidłowej próbki jest jej dokładne wymieszanie bezpośrednio po pobraniu, a także zachowanie stałego stężenia antykoagulantu, ponieważ

jego zmiany mogą powodować zmiany wskaźników związanych głównie z objętością krwinki (tab. 1).

Tradycyjnie liczba krwinek białych była liczona pod mikroskopem w kamerach pomiarowych (np. kamera Bürkera). Obecnie metoda ta jest stosowana jedynie do weryfikacji krańcowo niskich wartości, uzyskanych metodą automatyczną. Automatyzacja badań w hematologii została zapoczątkowana przez dr W. Coultera w 1956 r.

Tabela 1. Potencjalne przyczyny błędów w automatycznym oznaczaniu krwinek białych (Pinkowski 2001, Analizatory hematologiczne).

Wzrost liczby	Zmniejszenie liczby
niezhemolizowane erytrocyty,	skrzep, mikroskrzepy,
agregaty płytek, płytki ołbrzymie,	rozcieńczenie krwi przez kroplówkę,
erytroblasty, krioglobuliny,	nadmierny rozpad komórek,
białka monoklonalne, heparyna,	stara krew,
zanieczyszczenia odczynników i antykoagulantu	źle wymieszana krew

Wykorzystał on zmianę wartości pola magnetycznego spowodowaną przez zawiesinę krwinek. Metoda ta, zwana metodą impedancji, pozwala określić większość wskaźników czerwonych krwinek i płytkowych związanych z objętością tych elementów. W odniesieniu do białych krwinek metoda impedancyjna stanowi podstawę analizatorów różnicujących leukocyty na trzy populacje (tzw. 3-diff):

- **LYM** – obejmuje limfocyty, limfocyty odczynowe (pobudzone), blasty, erytoblasty, niezhemolizowane erytrocyty, plazmocyty, płytki olbrzymie;
- **GRAN** – obejmuje granulocyty z jądrem segmentowym, pałeczkowatym, metamielocyty, eozynofile;
- **MONO-MID** – obejmuje monocyty, odczynowe (pobudzone) limfocyty, promielocyty, mielocyty, blasty, bazofile, eozynofile.

Analizatory te są bardzo dobrym narzędziem do przesiewowego badania morfologii krwi, ich wyniki cechuje wysoka swoistość i efektywność diagnostyczna jeżeli chodzi o osoby zdrowe czy też o znanej patologii w zakresie układu czerwonych krwinek. Natomiast nie dostarczają wymaganych informacji dotyczących zmian w układzie białokrwinkowym. Podstawą zautomatyzowanego różnicowania krwinek białych jest wykorzystanie cech fizykochemicznych, charakterystycznych dla poszczególnych populacji komórek, rodzaju organelli komórkowych, ilości i rodzaju ziarnistości, składu chemicznego cytoplazmy, oporności błony komórkowej na lizę, zdolność do penetracji przez błonę określonych barwników, możliwość selektywnego wiązania barwników czy przeciwciał monoklonalnych, zdolność do przewodzenia prądu elektrycznego. Analizatory hematologiczne różnicujące krwinki białe na pięć populacji (tzw. 5-diff.) zwykle wykorzystują kombinację różnych metod, które mierzą różne cechy komórek przepływających przez kil-

ka odrębnych kanałów pomiarowych, połączonych z matematycznym opracowaniem sygnałów z poszczególnych detektorów. I tak np. kombinacje:

- **impedancja + przewodnictwo + rozproszenie światła** – wykorzystano m.in. w analizatorach Beckman Coulter-Hmx, LH500, LH750;
- **impedancja + cytoliza + cytochemia (aktywność POX)** – wykorzystano m.in. w analizatorach Siemens Advia 120, Technikon H2, H3;
- **impedancja + cytoliza + cytochemia (ziarnistości Eo)** – wykorzystano m.in. w aparatach Horiba ABX Pentra 60, Pentra 120, Siemens Advia 70;
- **rozpraszanie światła + cytoliza + cytochemia (ziarnistości Eo)** – wykorzystano m.in. w aparatach Sysmex SF3000, XE2100;
- **rozproszenie światła laserowego przez komórki – technika MAPSS** – wykorzystano m.in. w urządzeniach Abbott Diagnostics CELL DYN 3200, 3700, 4000.

Metody te pozwalają różnicować populacje krwinek białych na limfocyty, monocyty, eozynofile, bazofile i neutrofile, a aparaty 8-diff wyodrębniają dodatkowo trzy populacje niedojrzałych form neutrofili, limfocytów oraz monocytów (tab. 2). Wynik badania z analizatora hematologicznego składa się z dwóch części. Pierwsza zawiera wartości liczbowe, natomiast druga, graficzna zawiera histogramy i scattergramy przedstawiające charakterystykę mierzonych populacji komórek. Interpretując wynik automatycznego badania morfologii krwi należy pamiętać, że w analizatorach mierzone są inne cechy komórek niż w badaniu mikroskopowym. Zalecenia NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) określają, że do pełnej oceny układu białokrwinkowego należy podawać zarówno wartości odsetkowe, jak również wartości bezwzględne dla poszczególnych populacji krwinek białych. Zmiany całkowitej liczby leukocytów należy zawsze rozpatrywać

Tabela 2. Najczęstsze skróty stosowane do opisywania wyników krwinek białych na analizatorach hematologicznych (wg red. Dmoszyńska 2011, Hematologia).

WBC	liczba krwinek białych
WIC	liczba krwinek białych zmierzona metodą impedancyjną
WOC	liczba krwinek białych zmierzona metodą optyczną
NEU	liczba lub odsetek neutrofili
SEG	liczba lub odsetek neutrofili z jądrem segmentowym
BAND	liczba lub odsetek neutrofili z jądrem pałeczkowatym
IG	liczba lub odsetek młodych form granulocytów
EOS	liczba lub odsetek granulocytów kwasochłonnych
BASO	liczba lub odsetek granulocytów zasadochłonnych
MONO	liczba lub odsetek monocytów
LYM	liczba lub odsetek limfocytów
ALY	atypowe limfocyty
LIC	duże niedojrzałe komórki
IMG	niedojrzałe komórki granulocytarne
IML	niedojrzałe limfocyty
IMM	niedojrzałe monocyty
MID	liczba lub odsetek komórek o objętości pomiędzy neutrofilami (NEU) a limfocytami (LYM)
VAR LYM	liczba lub odsetek odmiennych limfocytów
BLAST	liczba lub odsetek komórek blastycznych
LUC	duże komórki peroksydazoujemne
WVF	wskaźnik żywych krwinek białych

łącznie ze zmianami liczebności ich populacji. Nie zaleca się stosowania wzoru odsetkowego do oceny zaburzeń ilościowych (tab. 3), natomiast jest to pomocne w stwierdzeniu niektórych zaburzeń jakościowych. Interpretując wynik należy również uwzględnić wiek pacjenta (tab. 4). Pomimo coraz bardziej zaawansowanych technik pomiarowych stosowanych w analizatorach hematologicznych pewien procent wszystkich wyników wymaga weryfikacji mikroskopowej. Analizatory hematologiczne nie identyfikują dokładnie młodych form leukocytów, ale wykrywają ich obecność i klasyfikują je jako niedojrzałe komórki – LIC, co wymaga bezwzględnej oceny mikroskopowej. Rozmaz krwi obwodowej barwiony najczęściej metodą May-Grünwalda-Giemzy

jest oglądany pod mikroskopem i poszczególne krwinki białe są liczone wzrokowo, minimum do całkowitej liczby 100 komórek. W preparacie należy również zwrócić uwagę na pozostałe elementy krwi: erytrocyty oraz płytki krwi.

Wymagania stawiane dzisiejszym analizatorom są bardzo wysokie i należą do nich m.in.:

- odpowiedni zakres badań,
- krótki czas przygotowania analizatora do pracy,
- właściwy algorytm oznakowania wyników patologicznych,
- wysoka precyzja oznaczeń przy odpowiednio dużym zakresie liniowości,
- mała objętość próbki,

Tabela 3. Prawidłowy wzór odsetkowy i bezwzględne wartości krwinek białych dla dorosłych (wg red. Dmoszyńska 2011, Hematologia).

	Odsetek %	Liczba bezwzględna 10 ⁹ /l
Obojętnochłonne	60 – 70	1,8 – 8,0
– pałeczkowate	3 – 5	0 – 0,7
– segmentowe	57 – 65	1,8 – 7,0
Eozynofile	2 – 4	0,05 – 0,4
Bazofile	0 – 1	0,01 – 0,3
Limfocyty	20 – 45	1,0 – 5,0
Monocyty	4 – 8	0,03 – 0,8

Tabela 4. Zmiany w obrazie krwinek białych w zależności od wieku (wg red. Dmoszyńska 2011, Hematologia).

	12 miesięcy	4 lata	10 lat	dorosły
Leukocyty ($10^9/l$)	6,0 – 17,5	5,5 – 15,5	4,5 – 13,5	4,5 – 11,0
Neutrofile (%)	31	42	54	59
Eozynofile (%)	2,6	2,8	2,4	2,7
Bazofile (%)	0,4	0,6	0,5	0,5
Limfocyty (%)	61	50	38	34
Monocyty (%)	4,8	5,0	4,3	4,0

– krótki czas analizy,

– odpowiednia edycja wyniku w postaci bardzo czytelnych histogramów i scattergramów.

Jest wiele przyczyn podwyższenia lub obniżenia liczby leukocytów i dotyczą one zarówno chorób krwi, jak i innych układów i narządów. Zwiększenie liczby granulocytów obojętnochłonnych powodują m.in.: infekcje bakteryjne, zakażenia pierwotniakami, pasożytami, grzybami, niektóre infekcje wirusowe (np. półpasiec), nowotwory (zwłaszcza z obecnością przerzutów), stany po splenektomii, stany po obfitym krwotoku, zespoły rozrostowe szpiku, uszkodzenie tkanek (oparzenia, urazy, stany pooperacyjne, zawał mięśnia sercowego), zaburzenia metaboliczne (mocznica, kwasica cukrzycowa, przełom tarczycowy), ciąża. W przypadku neutrofilii w obrazie mikroskopowym obserwuje się:

– tzw. przesunięcie w prawo, czyli zwiększony odsetek granulocytów o jądrze wielopłatowym (np. w niedokrwistości megaloblastycznej);

– tzw. przesunięcie w lewo, czyli zwiększoną liczbę granulocytów o jądrze pałeczkowatym, metamielocytów, ewentualnie form młodszych (np. przy zakażeniach bakteryjnych, ziarnicy złośliwej). Znaczne zwiększenie liczby krwinek białych do ok. 20–50 G/L, dochodzące nawet do 100 G/L – nie zawsze jest związane z chorobą rozrostową układu białokrwinkowego. Może być wynikiem odczynu białaczkowego, który charakteryzuje się znacznym odmłodzeniem, czyli przesunięciem w lewo, a obok niedojrzałych form granulocytów mogą pojawić się także erytroblasty (odczyn leukoerytoblastyczny). W cytoplazmie granulocytów stwierdza się ziarnistość

toksyczną, ciała Döhlego oraz obecność wodniczek. W różnicowaniu pomocne mogą być badania cytochemiczne, a przede wszystkim stan kliniczny. Najczęstszymi przyczynami odczynu białaczkowego są:

– posocznica, zwłaszcza spowodowana bakteriami Gram-ujemnymi,

– gruźlica o ciężkim przebiegu,

– choroba nowotworowa.

Odczyn białaczkowy może się pojawić w niektórych wrodzonych wadach serca (np. tetralogia Fallota) oraz w przypadkach wrodzonych zaburzeń chromosomalnych (np. zespół Downa). Odmłodzenie układu granulocytarnego często do szczybla mieloblasta obserwowane jest u pacjentów z aplazją szpiku w okresie zdrowienia; w takim przypadku obecność mieloblastów we krwi obwodowej utrzymuje się krótko, zwykle kilka dni. Granulocytopenia, czyli zmniejszenie liczby granulocytów wskazuje zwykle na zmniejszone ich wytwarzanie bądź zwiększone pozaszpikowe zużycie lub zatrzymywanie granulocytów (np. w ogniskach zakażeń, w powiększonej śledzionie), uszkodzenie szpiku przez środki chemiczne i promieniowanie jonizujące, nadczynność lub powiększenie śledziony, zespoły mielodysplastyczne, białaczkę włochatokomórkową, kolagenozę, dury, paradury, zakażenia wirusowe oraz leki. Do leków najczęściej wywołujących granulocytopenię należą: przeciwpadaczkowe, przeciwgruźlicze, stosowane w nadczynności gruczołu tarczowego, doustne przeciwcukrzycowe, niektóre antybiotyki (np. chloramfenikol), a przede wszystkim preparaty stosowane w chemioterapii. Limfocytoza występuje w przewlekłej

białaczce limfatycznej, niektórych chłoniakach, mononukleozie zakaźnej, odrze, różyczce, ospie wietrznej, gruźlicy, brucellozie, odczynach alergicznych na leki, po splenektomii. Limfopenię natomiast obserwuje się w pierwotnych i wtórnych zespołach niedoborów immunologicznych, zwłaszcza w ziarnicy złośliwej i AIDS. Bazofile są komórkami biorącymi udział w odczynach nadwrażliwości, jak np. astma, pokrzywka. Są to głównie komórki wydzielające histaminę i kininy. Przyczyną bazofilii może być m.in.: hiperlipidemia, rak płuca, przewlekła niewydolność nerek, leczenie estrogenami, zespoły mieloproliferacyjne, choroba Crohna oraz odczyny nadwrażliwości (leki, obce białko). Monocyty odgrywają ważną rolę w obronie organizmu przed zakażeniami bakteryjnymi i grzybiczymi. Przyczynami monocytocytozy mogą być m.in.: choroby z autoimmunoagresji (toczeń trzewny, reumatoidalne zapalenie stawów), mononukleozę zakaźną, zapalenie mięśni, sarkoidozę, gruźlicę, kiłę, zimnicę. Najczęstszą przyczyną zwiększenia liczby eozynofili są choroby alergiczne (astma, gorączka sienna, odczyny polekowe), choroby pasożytnicze (glistnica, lamblioza), choroby skóry (łuszczyca, egzema), dializa, leczenie limfokininami i IL-2. Znaczna eozynofilia towarzyszy alergicznej aspergillozie, zespołowi Churg-Straussa oraz zespołowi samoistnej hipereozynofilii.

Bardzo często producenci analizatorów hematologicznych porównują swoje aparaty do cytometru przepływowego. Rzeczywiście, w niektórych nowoczesnych

analizatorach jest wykorzystane światło lasera. Jednakże na tym kończą się wszelkie podobieństwa. Analiza cytometryczna umożliwia rozróżnienie populacji komórek pod względem cech morfologicznych (wielkość, ziarnistość komórek) na podstawie zjawiska rozpraszania światła oraz badanie składu antygenowego (fenotypu) przy wykorzystaniu zjawiska fluorescencji. Cytometria przepływowa jako metoda szybka i względnie mało kosztowna staje się standardem we współczesnej praktyce hematologicznej, a wynik badania, obok oceny morfologicznej, cytochemicznej rozmazu szpiku kostnego czy histologicznej wyinka tkanki jest integralną częścią całości informacji służącej do postawienia trafnego rozpoznania. Cytometria przepływowa umożliwia określenie stopnia zróżnicowania komórek białych (i nie tylko), charakteru ekspresji wielu antygenów jednocześnie, przez co pozwala wykryć ewentualne nieprawidłowości fenotypowe i zaburzenia dojrzewania komórek. Reasumując: analizatory hematologiczne mają możliwość przeprowadzenia analizy tysięcy komórek w krótkim czasie, co znacznie zwiększa czułość w porównaniu z metodą mikroskopową i jednocześnie daje dużo większą pewność w wykrywaniu zmian w obrazie krwi. W przeważającej większości przypadków, w których są nawet niewielkie przesunięcia w układzie białokrwinkowym, istnieje bardzo duża zgodność pomiędzy rozdziałem automatycznym i badaniem mikroskopowym, tym niemniej zawsze pozostaje margines, gdzie ocena wzrokowa jest niezbędna.

Piśmiennictwo dostępne u autora.

prof. dr hab. n.med. Bogdan Mazur
Śląski Uniwersytet Medyczny
Katedra i Zakład Mikrobiologii i Immunologii
w Zabrze
mail: bmazur@sum.edu.pl

ZNACZENIE MAKRO- I MIKROCYTOZY KRWINEK CZERWONYCH W DIAGNOSTYCE LABORATORYJNEJ

THE IMPORTANCE OF MACRO- AND MICROCYTOSIS OF RED BLOOD CELLS
IN THE LABORATORY DIAGNOSTICS

Aneta Wrzyszc

Streszczenie

Terminami makrocytoza i mikrocytoza krwinek czerwonych określa się stany, w których erytrocyty są odpowiednio większe i mniejsze niż przyjęto się uważać za prawidłowe. Makro- lub mikrocytoza erytrocytów sama w sobie nie powoduje żadnych objawów, ale jej identyfikacja może stanowić ważną informację na temat choroby podstawowej. Różnice w wielkości erytrocytów są wykorzystywane przede wszystkim w diagnostyce różnicowej niedokrwistości, ale mogą być pomocne w diagnostyce innych, niehematologicznych chorób do monitorowania ich przebiegu lub jako czynnik rokowniczy.

Słowa kluczowe

Makrocytoza erytrocytów, mikrocytoza erytrocytów, MCV.

Summary

Macrocytosis and microcytosis of red blood cells are the conditions in which erythrocytes are respectively larger or smaller than commonly considered normal. Macro- or microcytosis in itself does not cause any symptoms, but its identification can provide important information about the underlying disease. Differences in the size of red blood cells are primarily used in the differential diagnosis of anemia, but may be helpful in the diagnosis of other nonhematological diseases, to monitor their progress, or as a prognostic factor.

Key words

Macrocytosis, microcytosis, MCV.

Makrocytoza i mikrocytoza krwinek czerwonych to stany, w których erytrocyty są odpowiednio większe i mniejsze niż przyjęto się uważać za prawidłowe, czyli o średnicy od 6 do 9 mm i średniej objętości (MCV) od 80 do 100 fl. Wielkość erytrocytów można określić oceniając średnicę pojedynczych erytrocytów w rozmazie krwi obwodowej bądź wyliczając średnią objętość erytrocytów. Średnia objętość erytrocytów może być wyliczona na podstawie hematokrytu uzyskanego metodą manualną i liczby erytrocytów lub, częściej, wyznaczona przez ana-

lizatory hematologiczne mierzące objętość każdej krwinki i wyliczające ich średnią objętość. Należy pamiętać, że nieprawidłowa wartość MCV nie zawsze oznacza nieprawidłową wielkość krwinki widzianą w świetle mikroskopu. Przykładem są sferyocyty, które są mikrocytami w rozmazie, ale mają prawidłowe MCV. Średnica krwinki czerwonej jest czulszym niż MCV identyfikatorem wczesnej makro- i mikrocytozy, gdyż obliczona średnia z objętości mierzonych erytrocytów jest nieczuła na niewielką liczbę krwinek o mniejszej lub większej średnicy niż

Tabela 1. Przyczyny makrocytozy z uwzględnieniem częstości występowania.

Przyczyna makrocytozy	Wygląd erytrocytów	Czynnik powodujący makrocytozę
Alkoholizm	okrągłe makrocyty	zmiany w strukturze lipidowej błony komórkowej
Niedobór wit. B ₁₂ i/lub kw. foliowego	owalne makrocyty, megalocyty	megalocytopoeza
Leki	owalne makrocyty (makroowalocyty)	różne
Choroby hematologiczne	różne	megalocytopoeza
Nowotwory/stany przednowotworowe	różne	różne
Choroby wątroby	okrągłe makrocyty	zmiany w strukturze lipidowej błony komórkowej
Niedoczynność tarczycy	okrągłe makrocyty	niejasne
Retikulocytoza	okrągłe, polichromatofilne erytrocyty	retikulocytoza

uznawana za prawidłową. Szacuje się, że w około 30% przypadków makrocytozy krwinek czerwonych stwierdzanej pod mikroskopem MCV pozostaje prawidłowe (1). Średnia objętość krwinki czerwonej (MCV) jest miarą objętości przeciętnej krwinki czerwonej osoby badanej. Wskaźnik ten, będący częścią standardowego badania morfologicznego krwi, jest przede wszystkim wykorzystywany w diagnostyce różnicowej niedokrwistości. W zależności od MCV dzieli się niedokrwistości na normocytowe (MCV prawidłowe), mikrocytowe (MCV < 80 fl) i makrocytowe (MCV > 100 fl). Jednak zwiększona lub zmniejszona średnia objętość erytrocytów może być wykorzystywana (i jest) w diagnostyce innych, niehematologicznych chorób. Makro- czy mikrocytoza erytrocytów sama w sobie nie powoduje żadnych objawów, ale jej identyfikacja może stanowić ważną informację na temat choroby podstawowej.

Znaczenie diagnostyczne makrocytozy erytrocytów

Makrocytoza jest stosunkowo często wykrywana w rutynowym badaniu morfologicznym krwi

obwodowej. Obecność makrocytozy stwierdza się u około 2,6% wszystkich badanych osób (1, 2, 3), przy czym w 60% nie jest ona związana z niedokrwistością (3), a w około 17% przypadków przyczyna makrocytozy pozostaje nierozpoznana (4). Makrocytozę erytrocytów ogólnie klasyfikuje się jako megaloblastyczną, gdzie w prekursorach erytrocytów jest zaburzona synteza DNA, i niemegaloblastyczną. Makrocytoza niemegaloblastyczna jest zwykle wynikiem działania trzech czynników: retikulocytozy, zmian w strukturze lipidowej błony komórkowej i zmian zawartości wody w komórce. W niektórych przypadkach mechanizm prowadzący do makrocytozy nie jest znany. Typowe przyczyny makrocytozy ujęto w tabeli 1. Duże erytrocyty nie zawsze oznaczają toczący się proces chorobowy. Na przykład większe niż erytrocyty osób dorosłych są erytrocyty noworodków i niemowląt (MCV do 160 fl), a także zdrowych kobiet ciężarnych (5, 6). Uważa się, że w niektórych przypadkach można mówić o predyspozycji genetycznej do makrocytozy, która nie wymaga interwencji terapeutycznej (7). Makrocytozę mogą indukować leki z grup antybiotyków, przeciwwirusowych, diuretyków,

Tabela 2. Leki indukujące makrocytozę erytrocytów.

Leki mogące indukować makrocytozę erytrocytów	
Chemioterapeutyki	Hydroksymocznik Metotreksat Cyklofosfamid Azatiopryna Merkaptopuryna Kladrybina Arabinozyd cytozyny 5-fluorouracyl
Leki przeciwwirusowe	Azydetymidyna (Retrovir) NRTI – nukleozydowe inhibitory odwrotnej transkryptazy
Antybiotyki	Sulfametoksazol Trimetoprim Pirymetamina
Leki hypoglikemizujące	Metformina
Diuretyki	Triamteren
Leki przeciwdrgawkowe	Fenytoina Prymidon Kwas walproinowy
Leki przeciwzapalne	Sulfasalazyna

przeciwzapalnych i innych (tabela 2). Schemat postępowania diagnostycznego w przypadku makrocytozy erytrocytów przedstawiono na rycinie 1.

Alkoholizm

Makrocytoza występuje często w alkoholizmie związanym bądź nie z chorobami wątroby. Badano możliwość wykorzystania MCV jako markera przewlekłej konsumpcji alkoholu. Dane literaturowe na temat diagnostycznego znaczenia MCV w chorobie alkoholowej wskazują na niską czułość diagnostyczną MCV (40–50%) przy swoistości rzędu 80–90% jako samodzielnego markera. Jednak wykazano, że MCV wzmacnia czułość diagnostyczną swoistego biomarkera diagnostyki choroby alkoholowej – ubogowęglowodanowej izoformy transferyny (%CTD) (9).

Uzależnienie od heroiny

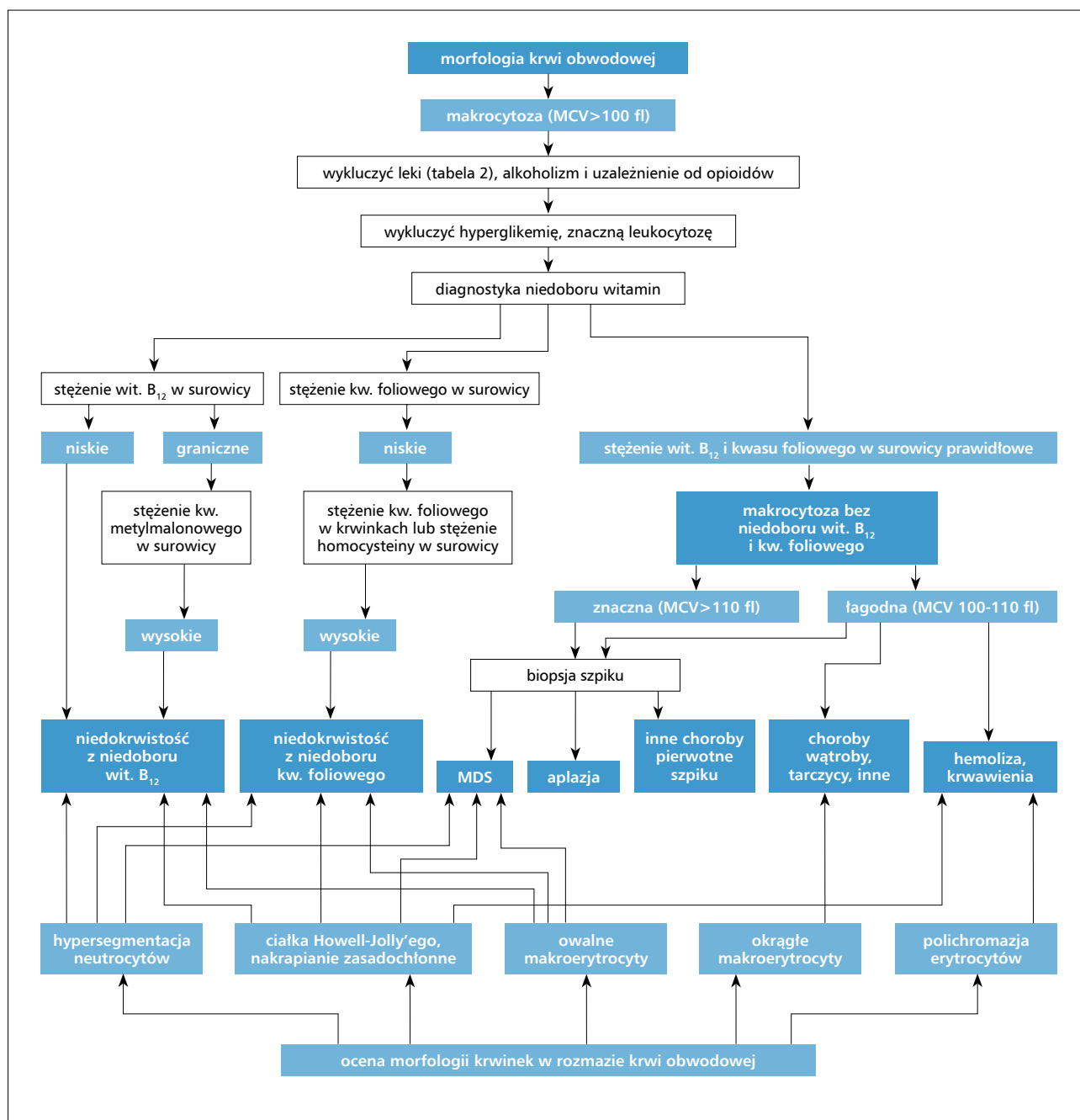
U osób uzależnionych od opioidów zaobserwowano występowanie makrocytozy erytrocytów. Objaw

makrocytozy obserwowany u alkoholików określa się mianem „makrocytozy alkoholowej” – nadmierna konsumpcja alkoholu ma bezpośredni destrukcyjny wpływ na komórki krwi i szpiku. Heroinowa makrocytoza (heroinowa niedokrwistość makrocytowa) charakteryzuje się, oprócz zwiększenia średniej objętości erytrocytów, także ich anizocytozą (wzrost RDW), zmniejszeniem liczby erytrocytów, zmniejszeniem stężenia Hb i spadkiem Ht. Przypuszcza się, że heroina zaburza prawidłową erytropoezę. Opioidy, które wiążą się ze swoistymi receptorami zarówno w mózgu jak i na erytrocytach, wpływają na proliferację i różnicowanie komórek progenitorowych i zaburzają tworzenie kolonii komórek hematopoetycznych (10). Oznacza to, że w diagnostyce różnicowej makrocytozy należy uwzględnić także uzależnienie od opioidów.

Niedobór witaminy B₁₂ i/lub kwasu foliowego

Przez długi czas niedobór witaminy B₁₂ był synonimem niedokrwistości makrocytowej. Teraz wiadomo, że wielu pacjentów z niedoborem B₁₂ nie ma niedokrwistości czy makrocytozy (11). W dodatku niedobór B₁₂ może powodować objawy neurologiczne bez niedokrwistości czy makrocytozy. W praktyce diagnostykę biochemiczną niedoboru B₁₂ zwykle ogranicza się do pacjentów, u których stwierdza się makrocytozę krwinek czerwonych (MCV > 100 fl), niedokrwistość makrocytową czy objawy neurologiczne. Udowodniono, że niskie lub prawidłowe MCV nie może być markerem wykluczającym niedobór witaminy B₁₂ (12).

Wczesne stadia niedoboru witaminy B₁₂ nie uwidaczniają się w postaci anemii czy makrocytozy. Poza tym zmiany megaloblastyczne mogą być maskowane



Ryc. 1. Schemat postępowania diagnostycznego w przypadku makrocytozy erytrocytów.

przez chorobę towarzyszącą. Makrocytoza może być blokowana lub redukowana przez konkurencyjny niedobór żelaza czy anemię chorób przewlekłych bądź maskowana przez alfa-talasemię, jak to ma miejsce u około 30% Afroamerykanów (11, 13). Są doniesienia

o pacjentach z anemią megaloblastyczną z prawidłowym lub obniżonym MCV bez towarzyszącego niedoboru żelaza czy leczenia lekami cytotoksycznymi (14). Niższe niż spodziewane MCV w niedokrwistości megaloblastycznej może być spowodowane wzrostem liczby

mikropoikilocytów – nadmiernej fragmentacji erytrocytów, spotykanej w ciężkich przypadkach niedokrwistości (14, 15). Czułość MCV w wykrywaniu niedoboru B_{12} jest niska, stąd wielu pacjentów z niedoborem jest niezdiagnozowanych, gdy brak podwyższonego MCV jest czynnikiem wykluczającym tych pacjentów z dalszej diagnostyki niedoboru. Pomijanych jest w ten sposób – zależnie od badanej populacji – od 23 do 84% przypadków niedoboru B_{12} (12). Jednak około 55% pacjentów z niedokrwistością i podwyższonym MCV ma niedobór tej witaminy, stąd oznaczanie B_{12} u pacjentów z podwyższonym MCV jest wskazane. Wysoki MCV daje większe prawdopodobieństwo wykrycia niedoboru B_{12} , natomiast niskie bądź prawidłowe MCV diagnozę niedoboru B_{12} czyni mniej prawdopodobną. Jednak wartość diagnostyczna MCV jest zbyt niska, aby ten parametr mógł służyć do wykluczenia niedoboru B_{12} czy kwasu foliowego (12, 16). Dotyczy to zwłaszcza chorych w starszym wieku, u których współistnienie często wielu chorób i stosowane leczenie może mieć wpływ na objętość krwinek czerwonych (16).

Gammapatia monoklonalna

Makrocytoza może być jednym z objawów gammapatii monoklonalnej. Makrocytozę z anemią lub bez niej wykrywa się u około 9% chorych ze szpiczakiem. Okazuje się, że u części pacjentów ze szpiczakiem (17%), pierwotną amyloidozą (9%) i monoklonalną gammapatią o nieokreślonym znaczeniu (MGUS, 9%) wykrywa się niedobór witaminy B_{12} , jednak tylko u 25% tych pacjentów stwierdzono makrocytozę erytrocytów (17). Przyczyna makrocytozy u pacjentów z gammapatią monoklonalną jest nieznana. Przypuszcza się, że wspólnym ogniwem

łączącym te dwa objawy jest nadekspresja $TNF-\alpha$, którą stwierdza się zarówno w niektórych hematologicznych nowotworach, jak i w niedoborze ko-balaminy. Stwierdzono ustępowanie makrocytozy u pacjentów, którzy odpowiedzieli na zastosowane u nich leczenie choroby powodującej gammapatię, co sugeruje, że patogenaza makrocytozy i gammapatii może być ściśle związana. Gammapatia monoklonalna może być sama w sobie przyczyną makrocytozy erytrocytów i powinna być brana pod uwagę w diagnostyce różnicowej rutynowo stwierdzanej makrocytozy (17).

Zespół mielodysplastyczny

Makrocytoza erytrocytów jest powszechnym zjawiskiem u pacjentów z MDS. Zaobserwowano, że MCV może być markerem prognostycznym w tej grupie chorych. Okazuje się, że mediana przeżycia dla pacjentów z makrocytozą jest istotnie statystycznie wyższa niż pacjentów z $MCV \leq 100$ fl. Udowodniono, że MCV równe lub niższe niż 100 fl jest – obok niskiego stężenia hemoglobiny czy liczby blastów w szpiku – niezależnym czynnikiem ryzyka wpływającym na długość życia pacjentów z nieprawidłowym kariotypem w MDS (18).

Schyłkowa niewydolność nerek

Morfologicznie niedokrwistość w schyłkowej niewydolności nerek jest zwykle normocytowa i normochromiczna, jednak aż w 30% przypadków może wystąpić makrocytoza. Choć w tych przypadkach niedokrwistości zazwyczaj towarzyszy retikulocytoza, to przyczyny makrocytozy w przebiegu niewydolności nerek wymagają jeszcze badań. Zaobser-

wowano, że makrocytoza erytrocytów ($MCV > 102$) u pacjentów przewlekle dializowanych ze schyłkową niewydolnością nerek jest powiązana ze zwiększonym ryzykiem ich śmierci (19).

Terapia antyretrowirusowa

Wzrost średniej objętości erytrocytów u pacjentów leczonych preparatami antyretrowirusowymi był opisywany wielokrotnie. W literaturze wykazano zależność między wzrostem MCV w terapii NRTI i spadkiem funkcji mitochondriów wątroby *in vivo*. Pomiar MCV może być narzędziem do monitorowania leczenia NRTI jako marker toksycznego uszkodzenia wątroby (20).

Znaczenie diagnostyczne mikrocytozy erytrocytów

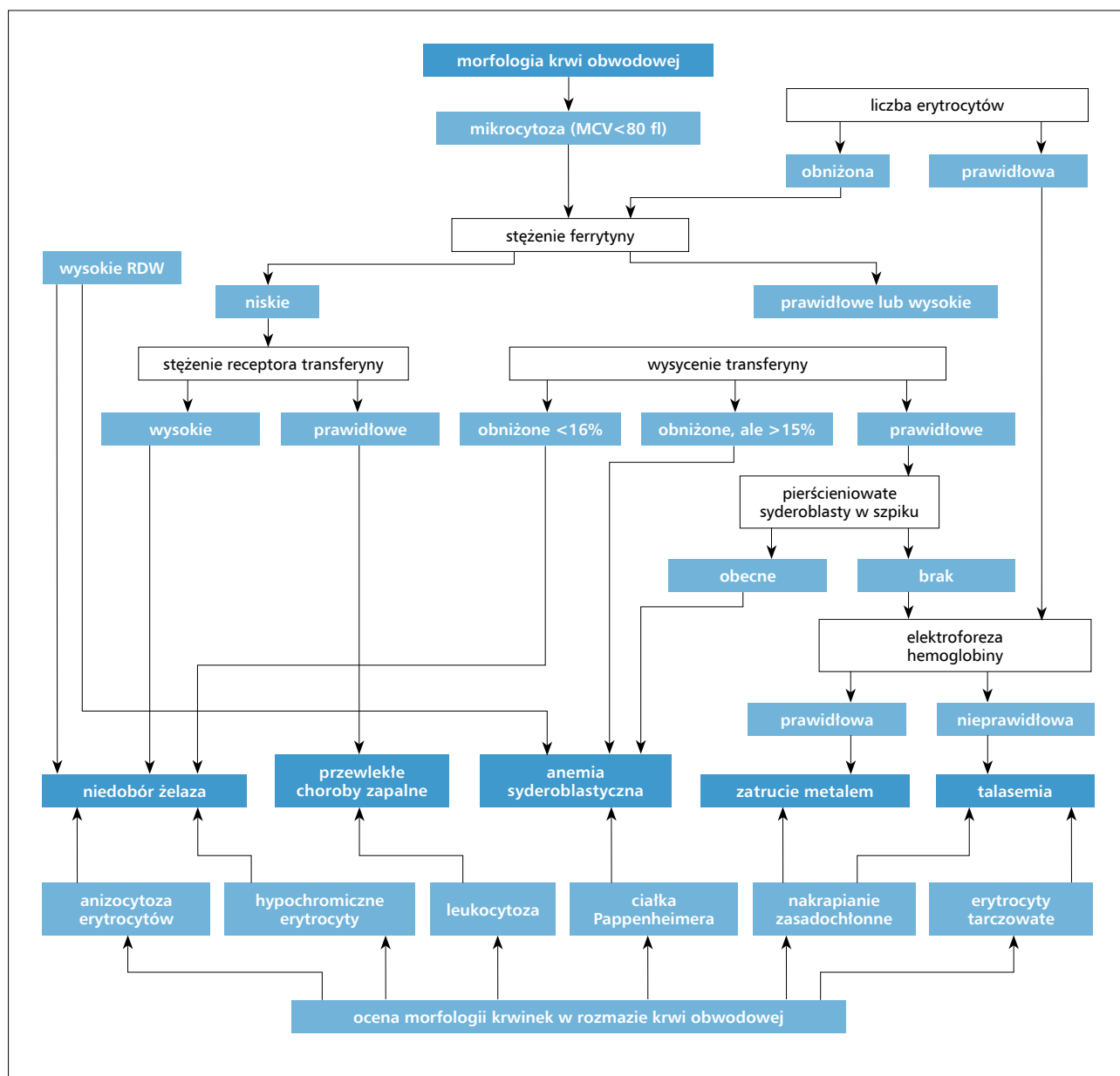
Mikrocytoza to stan charakteryzujący się występowaniem we krwi obwodowej erytrocytów o małej średnicy ($< 6 \mu m$) i/lub objętości ($< 80 fl$). Mikrocytoza erytrocytów kojarzy się przede wszystkim z niedokrwistością z niedoboru żelaza (IDA), jednak należy pamiętać, że występuje u około 10% zdrowych ludzi i w stanach niedożywienia. Może być objawem niedoboru miedzi, witaminy B_{12} , zatrucia metalami, talasemii, niedokrwistości syderoblastycznej czy niedokrwistości chorób przewlekłych (ACD).

Niedokrwistości

Najczęstszą przyczyną mikrocytozy erytrocytów jest niedobór żelaza i związana z nim niedokrwistość. Jednak drugą co do częstości występowania przyczyną jest niedokrwistość chorób przewlekłych, która jest

najczęściej umiarkowaną niedokrwistością normochromiczną, ale może mieć postać niedokrwistości mikrocytowej. Do niedobarwliwej niedokrwistości mikrocytowej prowadzą także talasemie i inne hemoglobinopatie, niedokrwistość syderoblastyczna oraz zatrucie metalami, najczęściej ołowiem. Najistotniejszym elementem różnicującym jest ocena metodami biochemicznymi zasobów ustrojowych żelaza. W wybranych przypadkach przeprowadza się elektroforezę hemoglobiny, badanie łańcuchów α - i β -globiny lub analizę DNA. Przy diagnostyce niedokrwistości syderoblastycznej niezbędna jest ocena szpiku kostnego. Prawidłowa lub wyższa niż górna granica zakresu referencyjnego liczba erytrocytów przy relatywnie niskich wartościach MCV i MCH mogą sugerować talasemię.

Schemat postępowania w diagnostyce przyczyn mikrocytozy erytrocytów przedstawiono na rycinie 2. Średnia objętość erytrocytów generalnie nie jest markerem różnicującym niedokrwistości mikrocytowej. Do różnicowania niedokrwistości przebiegających z mikrocytozą proponowano wiele matematycznych formuł, które wykorzystywały co najmniej dwa parametry czerwonych krwinek uzyskiwane z analizatora hematologicznego. Większość formuł zawiera średnią objętość erytrocytów (MCV), średnią masę hemoglobiny (MCH), liczbę erytrocytów (RBC), stężenie hemoglobiny (Hb) czy rozpiętość rozkładu krwinek czerwonych (RDW) w różnych kombinacjach. Parametry te mogą być efektywnie wykorzystane jako testy przesiewowe do wykrycia przypadków wymagających dalszych badań (21, 22). W tej chwili jest już możliwe rozszerzenie parametrów oznaczanych przez niektóre analizatory o parametr określający procentową zawar-



Ryc. 2. Schemat postępowania diagnostycznego w przypadku mikrocytozy erytrocytów.

tość mikroerytrocytów oraz erytrocytów hipochromicznych. Okazało się, że te nowe parametry można z powodzeniem wykorzystać do różnicowania niedokrwistości z niedoboru żelaza i talasemii. Talasemia stanowi problem zdrowotny w basenie Morza Śródziemnego, na Dalekim i Środkowym Wschodzie oraz w Azji. Jednak w ciągu ostatnich lat w wyniku migracji ludności także

w Polsce odnotowuje się coraz większą liczbę osób dotkniętych tą chorobą. Cechą talasemii jest erytrocytoza i krwinki czerwone mniejsze niż w niedokrwistości z niedoboru żelaza. Z kolei w IDA stwierdza się większą anizocytozę erytrocytów (RDW).

Wyniki badań wskazują, że mikrocytoza wyrażona w odsetku mikroerytrocytów o objętości poniżej

60 fl jest wyraźnie wyższa w talasemii niż w niedokrwistości z niedoboru żelaza, a odsetek erytrocytów hipochromicznych z zawartością hemoglobiny poniżej 17 pg jest wyższy w IDA (23). Nowe wskaźniki lepiej oddają różnicę między talasemią i IDA niż MCV i MCH, co oznacza, że mogą one być w przyszłości stosowane z powodzeniem jako wstępne testy w różnicowej diagnostyce anemii mikrocytowej.

Terapia immunosupresyjna

Zaobserwowano, że sirolimus i mykofenolan mofetilu wywołują znaczącą mikrocytozę erytrocytów bez towarzyszącej anemii. Mikrocytoza ta nie jest związana z niedoborem żelaza czy przewlekłą infekcją i jest zjawiskiem odwracalnym (24). Oba leki, stosowane w transplantologii, mają działanie mielosupresyjne, jednak mechanizm, który powoduje powstawanie mikroerytrocytów, nie jest jasny. W diagnostyce przyczyn mikroerytrocytozy należało-

by również uwzględnić wpływ niektórych leków na syntezę hemu i/lub globiny.

Nieprawidłowa średnica i/lub objętość erytrocytów może być objawem choroby toczącej się w organizmie. Ocena wielkości krwinek czerwonych jest podstawowym etapem w diagnostyce różnicowej niedokrwistości. Jednak może być również pomocna w diagnostyce innych chorób, także niehematologicznych, jak choroby wątroby czy niedoczynność tarczycy. Oprócz tego, że jest parametrem diagnostycznym, może stanowić narzędzie do monitorowania postępu niektórych chorób, monitorowania efektów ich leczenia i oceny ryzyka śmierci. Ocena wielkości erytrocytów wyrażona w MCV jest częścią standardowego badania morfologii krwi, stąd łatwy dostęp do badania i niewielkie koszty są niewątpliwą zaletą tego wskaźnika czerwonekrwinkowego. Niestety, nie zawsze mikro- czy makrocytoza erytrocytów jest traktowana z należytą uwagą.

Piśmiennictwo:

1. Davidson R.J., Hamilton P.J.: High mean red cell volume: its incidence and significance in routine haematology. *J. Clin. Pathol.* 1978, 31, 493-498.
2. Breedveld F.C., Bieger R., van Wermeskerken R.K.: The clinical significance of macrocytosis. *Acta Med. Scand.* 1981, 209, 319-322.
3. Colon-Otero G., Menke D., Hook C.C.: A practical approach to the differential diagnosis and evaluation of the adult patient with macrocytic anemia. *Med. Clin. North Am.* 1992, 76, 581-597.
4. Oh R.C., Holt S.N.: How do you evaluate macrocytosis without anemia? *J. Fam. Pract.* 2008, 57, 548-550.
5. Krzemińska-Ławkowiczowa I., Maj S.: Atlas hematologii klinicznej. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa, 1993, 10-17.
6. Mehta A., Hoffbrand V.: *Haematology at a Glance*. Wiley-Blackwell 2010, 26-44.
7. Sechi L.A., De Carli S., Catena C., Zingaro L., Bartoli E.: Benign familial macrocytosis. *Clin. Lab. Haematol.* 1996, 18, 41-43.
8. Aslinia F., Mazza J.J., Yale S.H.: Megaloblastic anemia and other causes of macrocytosis. *Clin. Med. Res.* 2006, 4, 236-241.
9. Hock B., Schwarz M., Domke I. et al.: Validity of carbohydrate-deficient transferrin (%CDT), γ -glutamyltransferase (γ -GT) and mean corpuscular erythrocyte volume (MCV) as biomarkers for chronic alcohol abuse: a study in patients with alcohol dependence and liver disorders of non-alcoholic and alcoholic origin. *Addiction* 2005, 100, 1477-1486.
10. Savov Y., Antonova N., Zvetkova E. et al.: Whole blood viscosity and erythrocyte hematometric indices in chronic heroin addicts. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 2006, 35, 129-133.
11. Chan C.W.J., Liu S.Y.H., Kho C.S.B. et al.: Diagnostic clues to megaloblastic anaemia without macrocytosis. *Int. J. Lab. Hem.* 2007, 29, 163-171.
12. Oosterhuis W.P., Niessen R.W.L.M., Bossuyt P.M.M. et al.: Diagnostic value of the mean corpuscular volume in the detection of vitamin B12 deficiency. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 2000, 60, 9-18.
13. McRae T.D., Freedman M.L.: Why vitamin B12 deficiency should be managed aggressively. *Geriatrics* 1989, 44, 70-79.
14. Prentice A.G., Evans I.L.: Megaloblastic anaemia with normal mean cell volume. *Lancet* 1979, 313, 606-607.
15. Hoffbrand A.V., Pettit J.E.: *Atlas hematologii klinicznej*. Red. Anna Dmoszyńska, Wydawnictwo Czelej, Lublin 2003, 57-70.
16. Wirth R., Bauer J.: Erythrocyte volume is a poor predictor of cobalamin and folate deficiency in geriatric patients. *JAGS* 2007, 55, 2100-2101.
17. Horstman A.L., Serck S.L., Go R.S.: Macrocytosis associated with monoclonal gammopathy. *Eur. J. Haematol.* 2005, 75, 146-149.
18. Wang H., Wang X.Q., Xu X.P., Lin G.W.: Mean corpuscular volume predicts prognosis in MDS patients with abnormal karyotypes. *Ann. Hematol.* 2010, 89, 671-679.
19. Tennankore K.K., Soroka S.D., West K.A., Kiberd B.A.: Macrocytosis may be associated with mortality in chronic hemodialysis patients: a prospective study. *BMC Nephrology* 2011, 12, 19.
20. Sternfeld T., Lorenz A., Schmid M. et al.: Increased Red Cell Corpuscular Volume and Hepatic Mitochondrial Function in NRTI-Treated HIV Infected Patients. *Curr. HIV Res.* 2009, 7, 336-339.
21. Sirichotiyakul S., Maneerat J., Sa-nguansemsri T. et al.: Sensitivity and specificity of mean corpuscular volume testing for screening for α -thalassemia-1 and β -thalassemia traits. *J. Obstet. Gynaecol. Res.* 2005, 31, 198-201.
22. Bryant B., Hopkins J.A., Arceo S.M., Leitman S.F.: Evaluation of low red cell mean corpuscular volume in an apheresis donor population. *Transfusion* 2009, 49, 1971-1976.
23. Urrechaga E., Borque L., Escanero J.F.: The role of automated measurement of red cell subpopulations on the Sysmex XE 5000 analyzer in the differential diagnosis of microcytic anemia. *Int. J. Lab. Hem.* 2011, 33, 30-36.
24. Kim M.-J., Mayr M., Pechula M. et al.: Marked erythrocyte microcytosis under primary immunosuppression with sirolimus. *Transpl. Int.* 2006, 19, 12-18.

dr n.farm. Aneta Wrzyszc
Akademia Medyczna we Wrocławiu
Katedra Analitiky Medycznej

JESZCZE O MCV

MORE ABOUT MCV

Dagna Bobilewicz, Magdalena Drzewińska, Emilia Ciach

Streszczenie

Wskaźnik czerwonych krwinek MCV ma istotne znaczenie w diagnostyce hematologicznej, natomiast podawane przez różnych autorów górne granice zakresu wartości prawidłowych znacznie się różnią. Wyliczona na materiale własnym (7000 osób bez niedokrwistości) średnia wartość wynosiła 89,5 fl, a zakres (+/- 2SD) od 80 do 98 fl. Potwierdzono również przydatność średnich dziennych jako pomocniczego elementu kontroli jakości oznaczeń hematologicznych w okresie 3 miesięcy.

Słowa kluczowe

MCV, zakres wartości prawidłowych, średnie dzienne.

Summary

Mean cell volume (MCV) plays significant role in hematological diagnostics, nevertheless the upper normal values are different according to different authors. In 7000 nonanaemic patients mean value was 89,5 and range (mean +/- 2SD) between 80–98 fl. The utility of daily mean as a helpful parameter of quality control in hematology during 3 months was confirmed.

Key words

MCV, normal range, daily mean.

Średnia objętość krwinki czerwonej (MCV – *mean cell volume*) jest jednym z podstawowych parametrów czerwonych krwinek. W analizatorach hematologicznych jest najczęściej mierzona bezpośrednio i wyrażana w femtolitrach. Jej wartość jest warunkowana liczbą krwinek czerwonych, ich kształtem, stopniem dojrzałości, a także osmolalnością osocza. Należy pamiętać, że na wynik MCV mogą mieć wpływ zarówno czynniki *in vivo* jak *in vitro*, co oczywiście dotyczy warunków patologicznych *in vivo* (między innymi hiperglikemia powyżej 600 mg/dl, wybitna hiperlipemia, obecność zimnych aglutynin, hiperosmolalność), kiedy to wartości prawidłowe *in vivo* na skutek czynników interferujących i w zależności od stosowanej metody są fałszywie zawyżone.

MCV jest parametrem o dużym znaczeniu w różnicowaniu niedokrwistości, stanowiąc jedno z kryterium ich podziału na normocytarne oraz mikro- i makrocytarne. MCV w zakresie wartości prawidłowych jest typowe dla sytuacji, kiedy:

- większość krwinek ma zbliżoną objętość, a RDW nie przekracza 15%, co może mieć miejsce np. w początkowym okresie niedoboru żelaza lub równoczesnym niedoborze żelaza i witaminy B₁₂, w niedokrwistości chorób przewlekłych;
- wielkość krwinek jest zróżnicowana, jak np. w niedokrwistości hemolitycznej przy podwyższonym RDW.

Mikrocytoza jest najbardziej typowa dla niedokrwistości z niedoboru żelaza, a w warunkach fizjologicznych u niemowląt. Krańcowe wartości MCV spotykane w laboratorium rutynowym przedstawia-

ją ryciny 1 i 2 a, b. Najczęstsze przypadki makrocytozy natomiast to:

- niedobory wit. B₁₂, kwasu foliowego, aczkolwiek nie istnieje prosta korelacja pomiędzy MCV a stężeniami ww. substancji, co przedstawiono na ryc. 2 a, b. U obu pacjentów stężenie witaminy jest bardzo ni-

skie, poniżej progu czułości, natomiast u jednego MCV wynosi 104, u drugiego 132 fl;

- marskość wątroby;
- przewlekłe nadużywanie alkoholu;
- ciąża;
- pierwsze tygodnie życia.

Ze względu na rolę, jaką odgrywa MCV, jego kryteria diagnostyczne wydają się być istotne. Obserwuje się jednak dużą rozbieżność podawanych zakresów wartości referencyjnych. Tak jak za dolną granicę normocytozy większość autorów przyjmuje 80 fl, tak górne wartości wahają się od 92 nawet do 100 fl (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7). Lothar, podając wartość 96 fl, zaznacza jednak, że u osób nadużywających alkoholu za makrocytozę należy uważać dopiero wartości powyżej 98 fl, a spadek do 96 fl przemawia za utrzymywaniem abstynencji przez okres 4 tygodni (6). Badania własne prowadzone w latach 2008–2010 (dane niepublikowane) obejmowały ponad 7000 wyników, uzyskanych w populacji osób dorosłych obu płci bez cech niedokrwistości, wykluczono również stan ostrej fazy, nowotwory, choroby nerek i wątroby. Średnia wartość bez względu na wiek i płeć

Biochemia		wart. referencyjne	
ICD - 9:O95 - W 1	Żelazo	<11 mg/dl	▼ [37 - 181]
ICD - 9:O28 - W 2	Receptor Transferyny (sTfR)	32,62 mg/l	▲ [1.79 - 4.63]
Hematologia		wart. referencyjne	
ICD 9:C53 - W 1	WBC	8,35 10 ³ /ml	[4 - 11]
ICD 9:C55 - W 1	w. bzw. NEUTH	4,94 10 ³ /ml	[1.9 - 8]
	w. bzw. LYMPH	2,31 10 ³ /ml	[0.9 - 5.2]
	w. bzw. MONO	0,84 10 ³ /ml	[0.16 - 1]
	w. bzw. EO	0,21 10 ³ /ml	[0 - 0.8]
	w. bzw. BASO	0,05 10 ³ /ml	[0 - 0.2]
	NEUTH	59,1 %	[50 - 66]
	LYMPH	27,7 %	[20 - 40]
	MONO	10,1 %	▲ [4 - 8]
	EO	2,5 %	[2 - 4]
	BASO	0,6 %	[0 - 1]
	HGB	6,5 g/dl	▼ [12 - 16]
	HCT	23,6 %	▼ [37 - 47]
	RBC	4,12 10 ⁶ /ml	[3.8 - 5.2]
	MCV	57,3 fl	▼ [80 - 94]
	MCH	15,8 pg	▼ [27 - 31.2]
	MCHC	27,5 g/dl	▼ [30 - 36]
	PLT	339 10 ³ /ml	[150 - 400]

Ryc. 1. Obraz niedokrwistości z niedoboru żelaza o dużym nasileniu. Bardzo niskie MCV, stężenie żelaza w surowicy na granicy wykrywalności, bardzo wysokie stężenie rozpuszczalnego receptora transferyny. Prawidłowa liczba erytrocytów.

Hematologia		wart. referencyjne	
ICD 9:C53 - W 1	WBC	7,55 10 ³ /ml	[4 - 11]
	HGB	5,8 g/dl	▼ [12 - 16]
	HCT	16,8 %	▼ [37 - 47]
	RBC	1,27 10 ⁶ /ml	▼ [3.8 - 5.2]
	MCV	132,3 fl	▲ [80 - 94]
	MCH	45,7 pg	▲ [27 - 31.2]
	MCHC	34,5 g/dl	[30 - 36]
	PLT	144 10 ³ /ml	▼ [150 - 400]
	PWD	13,1 fl	
	MPV	11,3 fl	
	PCT	0,16 %	
Immunochemia		wart. referencyjne	
ICD 9:O83 - W 1	Witamina B12	<30,00 pg/ml	▼ [191 - 663]

a

Hematologia		wart. referencyjne	
OB po 1 godzinie	17 mm	▲ [< 12]	
	WBC	3,00 10 ³ /ml	▼ [4 - 11]
	HGB	10,1 g/dl	▼ [12.5 - 16.5]
	HCT	29,5 %	▼ [37 - 47]
	RBC	2,86 10 ⁶ /ml	▼ [3.8 - 5.8]
	MCV	103,0 fl	▲ [80 - 94]
	MCH	35,4 pg	▲ [27 - 31.2]
	MCHC	34,3 g/dl	[30 - 36]
	PLT	47 10 ³ /ml	▼ [150 - 400]
	PWD	29,5 fl	
	MPV	11,6 fl	
	PCT	0,05 %	
Immunochemia		wart. referencyjne	
Kwas foliowy	10,0 ng/ml	[3.1 - 17.5]	
Witamina B12	<30,00 pg/ml	▼ [191 - 663]	

b

Ryc. 2 a, b. Dwa przypadki niedokrwistości z niedoboru witaminy B₁₂, z nieznaczalnym jej stężeniem w surowicy, różnym stopniem nasilenia niedokrwistości i znacząco różniącymi się wartościami MCV.

wynosiła 89,5 fl, a zakres (średnia $\pm$ 2SD) wahał się w granicach 80–98 fl, z tym że w grupie powyżej 50 lat wartości były nieco wyższe niż u osób poniżej 50. roku życia. Przedstawione powyżej wyniki sprawiły, że uległy zmianie dotychczas podawane w laboratorium wartości odniesienia (80–94 fl). Minimalne i maksymalne wartości MCV występujące w różnych stanach patologicznych (po wykluczeniu czynników interferujących) przedstawiono na rycinach. Poza zastosowaniem MCV dla celów diagnostycznych jest ono wykorzystywane jako dodatkowy element (poza materiałami kontrolnymi), służący do oceny jakości wyników w oparciu o tzw. średnie dzienne. Dysponując odpowiednio dużą liczbą wyników morfologii krwi pod koniec każdego dnia czy określonych godzin pracy, można wyliczyć wartość średnią i odchylenie standardowe. Dla populacji, dla której pracuje laboratorium, dane te są stabilne bez względu na rozrzut wyników i niezależnie potwierdzają *stable performance* czyli powtarzalność procesów analitycznych. Tabela 1. przedstawia dane własne, zestawiające średnie

Tabela 1. Średnie dzienne dla MCV

Data	N	x $\pm$ SD
01.12.2011	166	89 $\pm$ 7
05.12.2011	212	89 $\pm$ 6
15.02.2012	201	89 $\pm$ 6
16.02.2012	199	89 $\pm$ 6
17.02.2012	109	89 $\pm$ 5
20.02.2012	212	89 $\pm$ 5

dzienne z sześciu losowo wybranych dni w okresie trzech miesięcy (grudzień 2011 – luty 2012), z uwzględnieniem wyników uzyskanych w godzinach największego obciążenia (odrzucono kilka wyników poniżej 60 fl i powyżej 128 fl). Wartości te utrzymywały się na takim samym poziomie.

Minusem średnich dziennych jest fakt, że dane te są uzyskiwane po zakończeniu dnia pracy, w praktyce po wykonaniu badań i wydaniu wyników. Tym niemniej jeżeli mogą być zaprogramowane i wyliczane automatycznie, stanowią dodatkową informację, co w przypadku ograniczeń w dostępności do hematologicznych materiałów kontrolnych ma istotne znaczenie.

Piśmiennictwo:

1. Bowski H.: Podstawowe laboratoryjne badania hematologiczne. PZWL, Warszawa 1995.
2. Janicki K.: Hematologia. PZWL, Warszawa 2001.
3. Traczyk W.: Fizjologia człowieka w zarysie. Wyd. VIII. PZWL, Warszawa 2005.
4. Kokot F., Kokot S.: Badania laboratoryjne: zakres norm i interpretacja. PZWL, Warszawa 2002.
5. Foester J. Greer J.P., Rogers G.M.: Wintrobe's Hematology, Williams & Wilkins, Philadelphia 1999.
6. Thomas L.: Clinical Laboratory Diagnostic. TH-Books Verlagsgesellschaft 1998.
7. Hoffbrand A.V., Moss P.A.: Essential Haematology. Wiley-Blackwell 2011.

prof. dr hab. n.med. Dagna Bobilewicz
mgr Magdalena Drzewińska
mgr Emilia Ciach

Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej Wydziału Nauki o Zdrowiu
 Warszawski Uniwersytet Medyczny

PŁYTKI KRWI W RUTYNOWEJ DIAGNOSTYCE HEMATologicznej

PLATELET COUNTING IN BASIC HEMATOLOGICAL DIAGNOSTIC

Krzysztof Lewandowski

Streszczenie

W artykule zaprezentowano metody oznaczania płytek krwi oraz zakresy prawidłowe. Omówiono czynniki prowadzące do uzyskiwania fałszywych oznaczeń. Ponadto wymieniono najistotniejsze przyczyny zmian liczby płytek (małopłytkowości i nadpłytkowości), a także przedstawiono interpretację zmian wskaźników płytkowych: średniej objętości płytek, wskaźnika anizocytozy płytek oraz płytkokrytu.

Słowa kluczowe

Liczba płytek krwi, małopłytkowość, nadpłytkowość.

Summary

The paper briefly describes different methods of platelet counting together with reference ranges. Causes of spurious results of platelets counting were presented. The most important causes of change in platelet level (i.e. thrombocytopenia and thrombocytosis) were characterized. The significance of some different platelets (mean platelet volume, platelet distribution width, plateletcrit) indices was also included.

Key words

Platelet count, thrombocytopenia, thrombocytosis.

Historia badania płytek krwi liczy niespełna 150 lat. Początkowo płytki były uznawane przez niektórych badaczy za prekursor erytrocytów, jednak w roku 1882 Bizzozero napisał o nich, że są „trzecim elementem upostaciowanym krwi” (1). Z racji niewielkich rozmiarów płytek krwi oraz szerokiego zakresu ich wartości spotykanych w warunkach fizjologii i patologii metody ilościowego oznaczania płytek krwi rozwijały się wolniej niż w przypadku pozostałych dwóch rodzajów krwinek i były obciążone znacznym błędem. Także w czasach obecnych precyzyjny pomiar liczby płytek we krwi stanowi duże wyzwanie dla producentów analizatorów. Pośrednim potwierdzeniem tego jest fakt, że dopiero w XXI wieku ustalono międzynarodową metodę referencyjną, w której nie jest wykorzystywana technika komorowa. Liczba płytek u osób zdrowych waha się

w zakresie 150–400 x 10⁹/l. Podobne wartości stwierdzone są u noworodków, jednak w pierwszych tygodniach i latach życia dzieci zakresy prawidłowe są znacznie wyższe (tabela 1).

Tabela 1. Zakresy prawidłowe liczby płytek krwi w różnych grupach wiekowych wg Lewis, Bain, Bates, 2004 (2).

Wiek	Zakres prawidłowy (x 10 ⁹ /l)
przy urodzeniu	100–450
7 dni	160–500
1 miesiąc	200–500
2 miesiące	210–650
3 miesiące	200–550
1 rok	200–550
2–6 lat	200–490
6–12 lat	170–450
> 12 lat	150–410

Liczba płytek nie zmienia się znacząco w czasie do 8 godzin od pobrania krwi na wersenian sodowy (EDTA). Jednakże należy dążyć do tego, aby czas do wykonania pomiaru był jak najkrótszy. Liczba płytek podlega stosunkowo niewielkim wahaniom dobowym oraz w poszczególnych dniach. Różnice te zwykle nie przekraczają 5%. Warto wiedzieć, że poziom płytek zależy od rasy (w porównaniu z rasą kaukaską jest niższy o ok. 10–20% u osób pochodzenia afrykańskiego oraz u Hindusów), w pewnym stopniu od płci (u kobiet poziom płytek jest z reguły wyższy o ok. 20% niż u mężczyzn, jednak może obniżyć się w związku z miesiączką), a także od palenia tytoniu (osoby palące mają wyższe wartości). Duży wysiłek fizyczny powoduje wzrost liczby płytek (2).

METODY OZNACZANIA LICZBY PŁYTEK KRWI (3, 4)

Metody manualne

Pośrednie: najbardziej znana (wg Fonio, 1912) polegała na wyliczeniu liczby płytek, które przypadają na 1000 erytrocytów w rozmazie krwi obwodowej. Na tej podstawie, znając liczbę erytrocytów w mm^3 krwi, z proporcji wyliczano liczbę płytek. Obecnie metody pośrednie mają znaczenie jedynie historyczne.

Bezpośrednie: krew rozcieńczano specjalnymi roztworami (np. zawierającymi szczawian amonowy), po czym uzyskaną zawiesinę wypełniano komorę hematologiczną i zliczano płytki na określonej powierzchni siatki przy użyciu mikroskopu optycznego lub, lepiej, fazowo-kontrastowego. Precyzja tej grupy metod jest ograniczona (CV wynosi ok. 20%), jednak jeszcze stosunkowo niedawno metoda komorowa była międzynarodowym testem referencyjnym dla oznaczania tego parametru.

Metody automatyczne

Impedancyjna: w metodzie tej płytki krwi, podobnie jak pozostałe elementy upostaciowane krwi, generują impulsy elektryczne, których wielkość jest wprost proporcjonalna do wielkości komórki. W prostszych rodzajach analizatorów wykorzystujących tę metodę płytki odróżniane są od erytrocytów oraz zanieczyszczeń na podstawie wielkości.

Optyczna: wykorzystuje się w niej światło lasera; płytki zliczane są na podstawie charakterystycznej wielkości i/lub określonej wartości współczynnika refrakcji.

Immunologiczna: metoda referencyjna (od 2001 roku), w której płytki zliczane są za pomocą cytometrii przepływowej po wcześniejszym ich wyznakowaniu przeciwciałem monoklonalnym, skierowanym przeciwko glikoproteinie płytkowej CD41 lub CD61 (5).

BŁĘDY ZWIĄZANE Z OZNACZANIEM LICZBY PŁYTEK KRWI (6)

Płytki krwi charakteryzują się dużą zmiennością wielkości: niektóre odpowiadają erytrocytom, podczas gdy inne są tak małe, że generują sygnały o takiej samej wielkości co drobiny zanieczyszczeń. Z tego względu niektóre z wyników uzyskiwanych w analizatorach hematologicznych są zafałszowane. Istnieje szereg przyczyn **zaniżania liczby płytek względem rzeczywistej wartości**. Oto one:

- Obecność skrzepu w badanej próbce jest bodaj najczęstszą przyczyną fałszywie zmniejszonej liczby płytek, której może towarzyszyć leukopenia. Długotrwałe pobieranie krwi, złe jej wymieszanie z antykoagulantem lub pobranie zbyt dużej objętości krwi w stosunku do ilości antykoagulantu to najczęstsze błędy przedlaboratoryjne. Baczna ocena makroskopowa próbki pozwala niekiedy

dostrzec zawarte w niej skrzepy. W takiej sytuacji konieczne jest ponowne pobranie materiału.

- Małopłytkowość rzekoma, czyli agregacja płytek pod wpływem antykoagulantu (najczęściej EDTA). Agregaty, powstające po pobraniu krwi do próbówki zawierającej np. wersenian, złożone są z kilku do nawet kilkuset płytek. Kompleksy takie, z racji dużych rozmiarów, nie są zliczane przez analizator. Ilość agregatów może być tak duża, że wynik oznaczenia może wręcz kwalifikować pacjenta do przetoczenia koncentratu płytek, co byłoby postępowaniem błędnym. Aby nie dopuścić do takiej sytuacji, konieczne jest wyjaśnienie przyczyny stwierdzonej małopłytkowości – a służyć temu będzie mikroskopowa ocena rozmazu (w tej sytuacji bezwzględnie wymagana) – oraz powtórne wykonanie oznaczenia z krwi pobranej jednocześnie na EDTA oraz na cytrynian i porównanie wyników uzyskanych z obu próbek.
- Satelityzm płytkowy jest to zjawisko opłaszczania się płytek na powierzchni leukocytów (głównie neutrofilów). Prowadzi to do zaniżania liczby płytek, z reguły jednak do wartości nie niższej niż $50 \times 10^9/l$. Objaw ten występuje znacznie rzadziej niż małopłytkowość EDTA-zależna. Rozpoznać go można także na podstawie oceny mikroskopowej rozmazu krwi obwodowej.
- Wzrost ilości płytek olbrzymich, które zliczane są w zależności od rodzaju analizatora albo jako leukocyty, albo jako erytrocyty.

Liczba płytek może być fałszywie zawyżona w przypadku obecności:

- schistocytów: zniekształcone erytrocyty o niewielkiej objętości mogą być zliczane jako płytki krwi. Dotyczy to głównie analizatorów impedancyjnych. Obecność tych postaci poikilocytów

można podejrzewać przy podwyższonej wartości RDW, wyraźnie zwiększonej wartości MPV oraz przy nieprawidłowym kształcie histogramu obrazującego wielkość płytek. Kluczowe znaczenie dla potwierdzenia obecności schistocytów ma ocena mikroskopowa preparatu;

- fragmentów leukocytów: fragmenty cytoplazmy komórek białczkowych lub chłoniakowych mogą odpowiadać wielkością płytkom. Ich cytoplazma jest jednak w bardziej jednolity sposób zabarwiona i nie zawiera typowych dla prawidłowych płytek ziarnistości. Te fragmenty komórkowe łatwo można pomylić z płytkami atypowymi, przede wszystkim zdegranulowanymi;
- drobnoustrojów (komórek pierwotniaków, grzybów, bakterii);
- lipidów: próbki krwi mogą zawierać duże ilości chylomikronów, zwłaszcza jeśli pobrane zostały po posiłku lub od pacjenta po wlewie żywienia pozajelitowego. Lipidy te tworzą drobne kropelki, które zliczane są przez analizatory, wykorzystujące optyczną metodę pomiaru, jako cząstki odpowiadające płytkom. Wzrost jest stosunkowo niewielki i raczej nie przekracza $50 \times 10^9/l$, co u pacjenta z prawidłową liczbą płytek nie ma istotnego znaczenia. Jednak w przypadku rzeczywistej głębokiej małopłytkowości takie nieprawidłowe oznaczenie może spowodować podjęcie błędnych decyzji terapeutycznych;
- krioglobulin, które wytrącają się niekiedy podczas rozcieńczania analizowanej próbki krwi, tworząc różnej wielkości strąty, m.in. o rozmiarach odpowiadających płytkom. Wartość płytek może być wówczas zawyżona kilkukrotnie. Zmiany widoczne są także w zakresie leukocytów oraz erytrocytów;
- zanieczyszczeń w płynach stosowanych do analizatorów.

PRZYCZYNY ZMIAN W LICZBIE PŁYTEK WE KRWI

Nadpłytkowość (7, 8)

Termin ten oznacza liczbę płytek we krwi przekraczającą górny zakres normy. Organizm ludzki może reagować zwiększeniem liczby płytek na bardzo wiele czynników zarówno fizjologicznych, jak i patologicznych. Typowo liczba płytek zwiększa się po intensywnym wysiłku fizycznym, po porodzie i zabiegach chirurgicznych. Zwiększona liczba płytek może utrzymywać się u pacjentów po usunięciu śledziony oraz u osób z niedokrwistością z niedoboru żelaza. Najczęściej objaw ten spotyka się jednak jako wyraz odczynu na krwotok, proces zapalny (infekcyjny lub nieinfekcyjny), proces nowotworowy (pozaszpikowy) lub na masywną hemolizę. Istnieje również grupa pierwotnych nadpłytkowości, spowodowanych nadmiernym wytwarzaniem płytek przez zmutowane nowotworowo komórki prekursorowe hematopoezy. Do schorzeń tych zalicza się przewlekłe nowotwory mieloproliferacyjne. Szczególnie duże wartości płytek spotyka się w nadpłytkowości samostnej, w której zmieniona nowotworowo komórka pnia wytwarza nadmierne ilości prekursorów megakariopoezy. Także inne schorzenia z tej grupy (przewlekła białaczka szpikowa, pierwotne zwłóknienie szpiku kostnego czy w mniejszym stopniu czerwienica prawdziwa) w określonych okresach przebiegu klinicznego zwykle objawiają się znaczną niekiedy nadpłytkowością. Częściowa delecja chromosomu 5 (del(5q)) stwierdzana w niektórych zespołach mielodysplastycznych także doprowadzić może do rozwoju nadpłytkowości, choć typowym objawem dla tej grupy chorób jest raczej małopłytkowość. Każda nadpłytkowość wymaga wyjaśnienia i wdrożenia odpowiednich środków terapeutycznych

(np. leków przeciwplatek), bowiem wzrost liczby płytek stanowi istotne zagrożenie rozwojem procesu zakrzepowego.

Małopłytkowość (7, 9)

Chociaż małopłytkowość oznacza obniżenie liczby płytek poniżej dolnej granicy zakresu referencyjnego, to często przyjmuje się jako istotną klinicznie wartość poniżej $100 \times 10^9/l$. Istnieje szereg przyczyn małopłytkowości, które po wyeliminowaniu fałszywych małopłytkowości podzielić można na trzy grupy.

1. Ze zmniejszonym wytwarzaniem płytek w szpiku

Istnieją bardzo rzadkie zespoły, w których małopłytkowość jest spowodowana zmniejszonym wytwarzaniem płytek, np. na skutek hipoplazji megakariocytów w szpiku. Zaburzenia te mają wówczas charakter wrodzony i często małopłytkowość stanowi jeden z objawów bardziej złożonego defektu. Bez porównania częstsze są nabyte „centralne” małopłytkowości. Mogą one być wywołane obecnością choroby rozrostowej w szpiku (np. ostrej białaczki, nowotworu przerzutowego, chłoniaka, przewlekłej białaczki limfocytowej), powodującej wyparcie prawidłowych szeregów hematopoezy, m.in. megakariopoezy. Płytki mogą być wytwarzane w sposób nieprawidłowy przez prekursorzy szpikowe i pomimo dużej ich liczby we krwi stwierdzana jest małopłytkowość. Tak dzieje się w przebiegu zespołów mielodysplastycznych oraz w niektórych wtórnych dysmiejopoezach, np. spowodowanych niedoborem witaminy B₁₂/kwasu foliowego.

Do centralnej małopłytkowości doprowadzić mogą leki, szczególnie o działaniu mielosupresyjnym (np. cytostatyki), a także tiazdy, oraz niektóre infekcje (np. wirusowe, w których wirusy działają bezpośrednio na komórki prekursorowe megakario-

poezy). Szkodliwie na szereg płytkotwórczy wpływać mogą substancje toksyczne (także etanol w większych ilościach) oraz promieniowanie jonizujące (szczególnie obejmujące obszary czynne hematopoetycznie).

2. Z nadmiernym niszczeniem (zużyciem) płytek

Obwodowe niszczenie płytek jest częstą przyczyną diagnozowanych małopłytkowości. Płytki mogą być usuwane z krążenia po ich związaniu z przeciwciałami. Wytwarzanie takich przeciwciał może być wywołane przez szereg przyczyn, do których należą substancje chemiczne (w tym wiele leków), choroby nowotworowe (np. przewlekła białaczka limfocytowa), choroby tkanki łącznej, ciąża oraz infekcje (przede wszystkim wirusowe – infekcja wirusem Epstein-Barr, cytomegalii, HIV, półpaśca, zapalenia wątroby B lub C, ale również w przebiegu np. gruźlicy czy zakażenia wywołanego *Helicobacter pylori*). Niekiedy nie udaje się ustalić czynnika etiologicznego; mówimy wówczas o tzw. pierwotnej małopłytkowości immunologicznej. Do nadmiernego zużycia płytek, a w następstwie tego do pojawienia się małopłytkowości dochodzi w przebiegu mikroangiopatii zakrzepowych, do których należą rozsiane wykrzepianie śródnacyniowe (z ang. *disseminated intravascular coagulation*, DIC), zespół hemolityczno-mocznicowy oraz plamica małopłytkowa zakrzepowa (z ang. *thrombotic thrombocytopenic purpura*, TTP). W chorobach tych różne czynniki prokoagulacyjne (np. uwolnione z rozpadających się komórek nowotworowych w przebiegu DIC lub obniżenie aktywności metaloproteiny ADAMTS-13, degradującej multimery czynnika von Willebranda w TTP) doprowadzają do powstawania zakrzepów przede wszystkim w drobnych naczyniach krwionośnych w całym organizmie (w DIC i TTP) lub w określonych narządach (głównie w nerkach w przebiegu HUS). Także nieprawidłowości w budowie śródbłonna na-

czyń mogą wywoływać nadmierną agregację płytek, co w skrajnych przypadkach doprowadza do małopłytkowości. Problem ten może mieć miejsce przy wadach zastawek serca, przy nasilonych zmianach miażdżycowych, przy współistnieniu nieprawidłowo unaczynionego dużego nowotworu, a także po wszczepieniu rozległych implantów naczyniowych z materiałów sztucznych.

3. Z nieprawidłową dystrybucją płytek

Ponieważ śledziona zawiera ok. 30% całej ogólnoustrojowej puli płytek, wszelkie stany, w których zwiększa się wielkość śledziony, mogą wpływać na zmniejszenie liczby płytek we krwi (nawet pomimo zwiększenia bezwzględnej masy płytek w organizmie). Do powiększenia tego narządu może dochodzić zarówno w przebiegu infekcji (choćby wtedy powiększenie to ma przeważnie charakter krótkotrwały), jak również chorób rozrostowych hematopoezy (m.in. przewlekłe nowotwory mieloproliferacyjne, zespoły limfoproliferacyjne), marskości wątroby z nadciśnieniem wrotnym, sarkoidozy czy chorób spichrzeniowych (np. choroby Gauchera). Do innych objawów hipersplenizmu należy leukopenia z neutropenią oraz niedokrwistość, a przede wszystkim objawy wynikające z samej choroby doprowadzającej do powiększenia śledziony.

INNE PARAMETRY DOTYCZĄCE PŁYTEK (2, 7)

Liczba płytek nie powinna stanowić jedyne parametru, będącego podstawą oceny tych komórek. Przydatną informacją może okazać się średnia objętość płytek (z ang. *mean platelet volume*, MPV), którą to wartość wyliczają niemal wszystkie stosowane współcześnie autoanalizatory. Pamiętać jednak należy, że parametr ten w dużym stopniu zależy od techniki pomiaru w analizatorze oraz od czasu, który upływa od pobra-

nia krwi do wykonania oznaczenia. Dlatego przy analizowaniu wyników ważne jest zachowanie stałych warunków pomiaru.

Niższe wartości MPV sugerują centralny mechanizm małopłytkowości (np. niedokrwistość megaloblastyczną, aplazję szpiku). Zwiększona wartość MPV może świadczyć o małopłytkowości obwodowej, z dużą odnową płytkową, najczęściej o podłożu immunologicznym. Płytki o większej średnicy, a zatem wyższe wartości MPV, są cechą typową wielu zaburzeń o charakterze wrodzonym. W niektórych z tych zespołów (zespół Bernarda-Souliera, makrotrombocytopenia śródziemnomorska, anomalia Chédiaka-Higashi'ego, anomalia Maya-Hegglin, zespół szarych płytek) stwierdza się dodatkowo małopłytkowość. Kolejnym parametrem opisującym wygląd płytek jest

wskaźnik anizocytozy płytek (z ang. *platelet distribution width*, PDW). Duża zmienność w wielkości płytek występuje typowo w zespołach mielodysplastycznych oraz w nowotworach mieloproliferacyjnych. Trzecim wskaźnikiem płytkowym jest tzw. „płytkokryt”, czyli objętość płytek zawartych w jednostce pełnej krwi. Parametr ten jednak nie ma żadnego znaczenia klinicznego.

Najlepsze nawet analizatory nie zawsze są w stanie dostarczyć w pełni wiarygodną ocenę płytek krwi. Wykluczenie fałszywej małopłytkowości spowodowanej agregacją lub satelityzmem, czy ocena stopnia uziarninowania płytek wymaga mikroskopowej oceny rozmazu. Obie metody – automatyczna i mikroskopowa – wzajemnie się uzupełniają i w wielu wypadkach muszą być stosowane jednocześnie. Warto o tym pamiętać.

Piśmiennictwo:

1. Bizzozero J.: Ueber einen neuen Formbestandteil des Blutes und dessen Rolle bei der Thrombose und der Blutgerinnung. Arch. Pathol. Anat. Physiol, 1882, 90, 261.
2. Lewis S.M., Bain B.J., Bates I.: Practical Haematology. Churchill Livingstone Elsevier, Philadelphia 2006.
3. Briggs C., Harrison P., Machin S.J.: Continuing developments with the automated platelet count. Int. J. Lab. Hem. 2007, 29, 77–91.
4. Rodgers G.M.: Diagnostic approach to the bleeding disorders. W: Greer J., Forester J., Lukens J. i wsp. (red.). Wintrobe's Clinical Hematology, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia 2004, 1511–1528.
5. ICSH Expert Panel on Cytometry and ISLH Task Force on Platelet Counting. Platelet Counting by the RBC/Platelet Ratio Method. Am. J. Clin. Pathol. 2001, 115, 460–464.
6. Zandecki M., Genevieve F., Gerard F., Godon A.: Spurious counts and spurious results on haematology analysers: a review. Part I: platelets. Int. J. Lab. Hem. 2007, 29, 4–20.
7. Bain B.J.: Blood cells. A practical guide. 4th ed. Wiley-Blackwell, Oxford 2006. 217–262.
8. Levine S.P.: Thrombocytosis. W: Greer J., Forester J., Lukens J. i wsp. (red.). Wintrobe's Clinical Hematology, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia 2004, 1591–1601.
9. Levine S.P.: Thrombocytopenia: Pathophysiology and classification. W: Greer J., Forester J., Lukens J. i wsp. (red.). Wintrobe's Clinical Hematology, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia 2004, 1529–1572.

dr n.med. Krzysztof Lewandowski
Katedra Analityki Klinicznej
Gdański Uniwersytet Medyczny

MORFOLOGIA I CO DALEJ? PRAKTYCZNE ASPEKTY ROZPOZNAWANIA NIEDOKRWISTOŚCI

FULL BLOOD COUNT. PRACTICAL ASPECTS OF FBC ABNORMALITIES

Andrzej Pluta, Krzysztof Gutkowski

Streszczenie

Ocena morfologii krwi należy do najczęściej wykonywanych testów diagnostycznych w praktyce lekarskiej. W pracy przedstawiono praktyczne podejście do interpretacji wyników badania morfologicznego krwi, a także wytyczono kierunki dalszej diagnostyki w kontekście uzyskanych wyników. Po klasyfikacji niedokrwistości w zależności od objętości krwinek czerwonych zestawiono najczęstsze przyczyny tych stanów, a także wskazano drogi dalszego postępowania celem ustalenia przyczyny anemii oraz rozpoczęcia właściwego leczenia. W pracy zestawiono również najczęstsze odchylenia od stanu prawidłowego w badaniach laboratoryjnych i badaniu fizykalnym, ułatwiające ustalenie ostatecznej diagnozy.

Słowa kluczowe

Morfologia krwi, anemia, niedobór żelaza, anemia chorób przewlekłych, żelazo, mikrocytoza, makrocytoza.

Summary

Full blood count (FBC) assessment belongs to the most common laboratory tests applied in clinical diagnosis. Practical aspects of FBC abnormalities have been discussed. Following red cells classification according to MCV (mean cells volume) values results the most common causes of observed abnormalities has been discussed. Further diagnostic steps considering treatment plan have been proposed. The most common abnormalities in laboratory parameters in the scope of physical examination results has been presented.

Key words

Full blood count, anaemia, iron deficiency, anaemia of chronic diseases, microcytosis, macrocytosis.

Badanie krwi należy do najczęściej wykonywanych testów diagnostycznych. Składa się na to wiele przyczyn. Wiele chorób przebiega bezobjawowo, zaś badanie fizykalne w obecnej epoce bardzo często niewiele wnosi do procesu diagnostycznego. Wyciąganie daleko idących wniosków na jego podstawie prowadzić może do nieprawidłowej diagnozy. Krew w procesie perfuzji wszystkich narządów i układów podlega wpływowi zmian zachodzących w tych narządach czy tkankach, co znajduje odbicie w obrazie morfologii krwi, zaś wiele stanów chorobowych przebiega z zajęciem szpiku. Z drugiej strony drogą krwi

przekazywane są do komórek i tkanek sygnały oraz informacje indukujące zmiany tkankowe. Nie bez znaczenia jest też fakt, że badanie morfologii krwi jest niedrogie, możliwe do szybkiej oceny i szeroko dostępne we wszystkich laboratoriach analitycznych oraz wielu gabinetach lekarskich. W pracy uwzględniono przede wszystkim własne długoletnie doświadczenia autorów w zakresie chorób wewnętrznych i hematologii oraz analizę najbardziej przydatnych publikacji naukowych dotyczących podejścia lekarza do diagnostyki niedokrwistości. Niedokrwistość nie jest jednostką nozologiczną i określa się ją jako obniżenie stężenia hemo-

globiny poniżej normy dla wieku i płci. Zazwyczaj definiowana jest jako spadek stężenia hemoglobiny we krwi poniżej normy. Według kryteriów Światowej Organizacji Zdrowia (World Health Organisation, WHO) prawidłowe stężenie hemoglobiny wynosi u mężczyzn $>13\text{g/dl}$ oraz u kobiet $>12\text{g/dl}$ (1). Badanie morfologii krwi pozwala nie tylko na ustalenie wstępnego rozpoznania niedokrwistości, ale bardzo często ukierunkowuje dalsze postępowanie diagnostyczne i leczenie.

Celem pracy jest przedstawienie zasad praktycznej interpretacji wyników morfologii krwi, a także przedstawienie wskazówek diagnostycznych dotyczących zmian we krwi, które mają największe znaczenie dla lekarza podstawowej opieki zdrowotnej. Choć w każdej chorobie zasadnicze znaczenie w ustaleniu właściwego rozpoznania ma dokładnie zebrany wywiad chorobowy oraz badanie fizykalne, to podczas zbierania wywiadu wydaje się celowe zwrócenie uwagi na kilka podstawowych pytań, które bardzo pomagają w diagnostyce najczęstszych przyczyn niedokrwistości. Badanie fizykalne ma ograniczoną wartość w rozpoznawaniu anemii, a wyniki badania skóry czy śluzówek chorego jako markery nasilenia anemii są subiektywne i często mylące. Przeanalizujemy zatem te pytania.

1. Czy pacjent ma obecnie lub miał w przeszłości objawy krwawienia?

Pytamy zawsze, czy pacjent zwrócił uwagę na obecność czarnych stolców lub żywoczerwonej krwi w stolcu, ciemniejszy niż zwykle kolor moczu (spowodowany np. krwinkomoczem), czy zdarzały mu się wymioty treścią fusowatą lub krwistą, czy (niezmiernie rzadko) zaobserwował występowanie krwiopłucia. Jeśli wystąpieniu któregośkolwiek z powyższych objawów towarzyszy spadek masy ciała, wzbudza to podejrzenie

choroby nowotworowej oraz wymaga dalszych badań, takich jak badanie gastroskopowe i kolonoskopowe. Badania stolca na obecność krwi utajonej wykazują, że u 5% osób zdrowych test ten wypada dodatnio. Pomimo dokładnych badań u 75% z nich nie można wykryć żadnych przyczyn krwawienia. Z drugiej jednak strony 20% nowotworów jelita grubego nie wywołuje krwawień, zaś niektóre nowotwory przewodu pokarmowego nigdy nie powodują krwawień (2).

2. Czy pacjent nie ma objawów sugerujących niedobór żelaza, a jeśli tak, to co jest przyczyną tego niedoboru?

Anemia z niedoboru żelaza jest najczęstszą chorobą niedoborową na świecie. Pacjenci z niedoborem żelaza obok znanych wszystkim lekarzom objawów wspólnych dla różnych niedokrwistości zgłaszają nadmierne wypadanie włosów, łamliwość paznokci, dysfagię, a podczas badania fizykalnego stwierdzić u nich można poprzeczne zagłębienia płytki paznokciowej (tzw. koilonychie). Kobiety pytamy o obfite miesiączki, obecność skrzepów krwi w krwawieniach miesięcznych, a także czy ich dieta zawiera czerwone mięso (źródło żelaza) oraz świeże jarzyny. Bardzo wielu chorych, zwłaszcza w starszym wieku, unika czerwonego mięsa, które potencjalnie może być źródłem cholesterolu, a wielu z nich ma zaleconą dietę ubogą w cholesterol z uwagi na schorzenia kardiologiczne. Ponieważ u mężczyzn najczęstszą przyczyną niedoboru żelaza są przewlekłe krwawienia z przewodu pokarmowego, jeśli wystąpią ich objawy, takie jak czarne stolce lub obecność krwi w stolcu, obowiązkiem lekarza jest skierowanie pacjenta na badanie gastroskopowe i kolonoskopowe.

Często przeoczaną przyczyną niedoboru żelaza jest nietolerancja glutenu, której objawy niekiedy wystę-

pują dopiero w wieku dorosłym. Rzadko występuje nocna napadowa hemoglobinuria, prowadząca do utraty krwi drogą moczu, co może doprowadzić do anemii z niedoboru żelaza.

3. Czy są dane sugerujące hemolizę?

Obecność łagodnej żółtaczki z nieznacznie podwyższoną frakcją bilirubiny dającej pośredni odczyn van der Berga we krwi, czasem też powiększona śledziona, a często również obecność innych schorzeń z grupy chorób autoimmunologicznych może oznaczać konieczność rozważenia wykonania dalszych badań w kierunku anemii hemolitycznej. Pomocne jest zwłaszcza badanie rozmazu krwi obwodowej, odczynu antyglobulinowego, liczby retikulocytów, stężenia haptoglobiny w surowicy krwi lub urobilino-geny w moczu.

4. Czy pacjent nie ma niedoborów witaminy B₁₂ lub kwasu foliowego?

Niedobory tych witamin zazwyczaj występują w wieku starszym; pacjenci ci szczególnie dobrze tolerują bardzo niskie wartości hemoglobiny lub erytrocytów, zaś wielu chorych ma jednocześnie objawy innych schorzeń z autoagresji lub bielactwo. Prawie zawsze jest to niedokrwistość makrocytowa z megaloblastycznym torem dojrzewania w szpiku. Jeśli chory przebył wcześniej gastrektomię lub operację usunięcia części jelit, brak witaminy B₁₂ wynika z upośledzenia jej wchłaniania będącego powikłaniem zabiegu operacyjnego, a nie z anemii złośliwej. Niedobory witaminy B₁₂ są przyczyną zaników pamięci i trudności w myśleniu (upośledzona koncentracja, łączenie faktów). Dzieje się tak dlatego, że witamina B₁₂ jest odpowiedzialna za ochronę elementów układu nerwowego. Gdy nie pełni swojej funkcji w odpowiedni sposób, osłonka

nerwowa zostaje uszkodzona, a co za tym idzie, zostaje spowolnione przesyłanie impulsów. Jeśli pacjent już rozpoczął leczenie witaminą B₁₂, jedyną pośrednią możliwością potwierdzenia rozpoznania niedokrwistości złośliwej jest stwierdzenie nieżyłowego zaniku żołądka lub obecności przeciwciał przeciwko komórkom okładzinowym i (lub) przeciwko czynnikowi wewnętrznemu, która to obecność utrzymuje się pomimo leczenia. Dzieje się tak dlatego, że klasyczne cechy tego typu anemii, jak odnowa megaloblastyczna w szpiku, makroowalocytoza we krwi oraz hipersegmentacja jąder granulocytów czy podwyższony poziom bilirubiny we krwi szybko ustępują po podaniu witaminy B₁₂ lub kwasu foliowego.

5. Czy anemia stanowi jedyny stan chorobowy chorego, czy też jest jednym z objawów schorzeń innych narządów?

Obecność objawów przewlekłych procesów zapalnych, niedomogi wątroby, nerek, tarczycy, nadnerczy lub przysadki mózgowej często mogą naprowadzić na przyczynę niedokrwistości. Spadek wagi ciała u chorego z anemią może podpowiedzieć wykonanie badań w celu wykrycia ukrytej choroby nowotworowej. Ważnym elementem określenia przyczyny niedokrwistości jest ocena, czy jest ona izolowana (czy zmiany dotyczą tylko jednej linii komórkowej) czy złożona – np. współistnienie trombocytopenii lub leukopenii.

Chociaż niedokrwistości towarzyszy wystąpienie wielu objawów, to jednak tylko niektóre z nich mogą naprowadzać na jej przyczynę. Spadek wagi ciała i pojawienie się błości powłok z „ziemistą” cerą mogą świadczyć o tym, że niedokrwistość jest objawem choroby nowotworowej lub chorób układowych. Jeśli niedokrwistości towarzyszy obniżenie liczby płytek krwi lub objawy skazy krwotocznej, zawsze przyczyna jest poważna i dia-

agnostyka musi obejmować choroby rozrostowe krwi, guzy łite z przerzutami do szpiku, rzadziej kolagenozy, jak np. toczeń rumieniowaty układowy. Często rozpoznanie chorób z tej grupy jest możliwe dopiero po wykonaniu badań krwi na panel przeciwciał przeciwdrozwych oraz przeciwko natywnej postaci kwasu dezoksyrybonukleinowego (antyDNA). Obecność anemii oraz powiększonych niebolesnych węzłów chłonnych o średnicy powyżej 1 cm, a także objawów ogólnych, takich jak nadmierna potliwość, spadek wagi ciała, ukierunkowuje dalsze postępowanie na ewentualność rozpoznania rozrostowych chorób układu chłonnego lub uogólnionej choroby nowotworowej z przerzutami do węzłów chłonnych. Wtedy należy pacjenta skierować na badanie USG oraz tomografię komputerową. W interpretacji wyników bardzo pomagają wcześniej wykonane wyniki morfologii krwi, których analiza w kontekście nowych zmian mówi o dynamice anemii i może zaoszczędzić pacjentowi konieczności przeprowadzenia wielu badań. Na rozpoznanie choroby nowotworowej często naprowadza obecność fragmentów krwinek czerwonych w rozmazie krwi obwodowej – tzw. schistocytów, anemii i małopłytkowości. Dlatego należy zawsze poprosić chorego o dostarczenie wyników badań, nawet wykonanych kilka lat wcześniej.

Minimalny zestaw badań służących w diagnostyce niedokrwistości obejmuje:

- morfologię krwi z rozmazem krwi obwodowej i liczbą retikulocytów,
- poziom stężenia mocznika, kreatyniny oraz analizę moczu,
- badanie stolca na obecność krwi utajonej,
- oznaczenie poziomu stężenia żelaza, całkowitej zdolności wiązania żelaza oraz stężenia ferrytyny w surowicy krwi,

– oznaczenie stężenia witaminy B₁₂ oraz kwasu foliowego,

– oznaczenie MCV – średniej objętości krwinek czerwonych (*mean corpuscular volume*).

Zawsze zaczynam analizę morfologii od stwierdzenia, czy anemia jest izolowana czy też towarzyszą jej zmiany w liczbie leukocytów lub płytek krwi, co często naprowadza nas na konieczność wykonania dalszych testów w kierunku chorób krwi lub chorób układowych. Obok oceny stopnia niedokrwistości pierwszym wskaźnikiem, na który należy zwrócić uwagę, jest objętość krwinek czerwonych; prawidłowe wartości mieszczą się w przedziale 80–100 femtolitrów (fl). Analiza MCV pozwala zaszeregować chorych z niedokrwistością do jednej z trzech kategorii: 1) anemie mikrocytowe (mikrocytarne), które charakteryzuje obecność małych krwinek czerwonych tj. < 80 fl, 2) anemie normocytowe (normocytarne) z krwinkami czerwonymi prawidłowej objętości oraz 3) anemie makrocytowe (makrocytarne) z dużymi krwinkami czerwonymi o MCV > 100 fl.

Niedokrwistości mikrocytowe (niska wartość MCV)

Jeśli anemii mikrocytovej towarzyszy zmniejszona koncentracja hemoglobiny w erytrocytach, to najczęstszą przyczyną jest anemia z niedoboru żelaza oraz anemia spowodowana chorobami przewlekłymi. Do tej grupy należą przewlekłe choroby zapalne i przewlekłe infekcje; niskie MCV rzadziej obserwuje się w nowotworach wątroby lub nerki. Zazwyczaj pomiar średniego stężenia hemoglobiny nie wnosi wiele do interpretacji morfologii krwi, poza rzadkimi przypadkami wrodzonych lub nabytych anemii hemolitycznych, gdzie wartości tych parametrów są często podwyższone, np. we wrodzonej sferocytozie.

Dużą pomoc w diagnostyce różnicowej tych stanów

Tabela 1. Podstawowe parametry w różnicowaniu niedokrwistości z niedoboru żelaza oraz anemii spowodowanej przewlekłą infekcją/ stanem zapalnym.

Parametr	Przewlekłe infekcje	Anemia z niedoboru żelaza
Fe	↓	↓
TIBC	↓	↓
%Sat T	20-40%	<20%
Ferrytyna	↑	↑
Żelazo w erytroblastach szpiku*	brak; obecne w makrofagach	zmniejszone

Fe – stężenie żelaza w surowicy.

TIBC – całkowita zdolność wiązania żelaza.

%Sat T – % wysycenia transferyny.

Ferrytyna – stężenie ferrytyny w surowicy krwi.

* Zawartość żelaza szpiku mierzy się po barwieniu błękitem pruskim.

daje oznaczenie stężenia białka C-reaktywnego (CRP), które jest markerem stanów zapalnych, oraz stężenia ferrytyny. Białka te należą do białek ostrej fazy i ich stężenie wzrasta w stanach zapalnych oraz w niektórych chorobach nowotworowych. Niskie stężenie ferrytyny i CRP oraz niskie stężenie żelaza i ferrytyny u chorego z anemią mikrocytarną są charakterystyczne dla anemii z niedoboru żelaza. Stężenie ferrytyny powyżej 100mg/l występuje tylko u około 10% chorych z anemią z niedoboru żelaza (3), zaś powszechnie uważa się, że stężenie ferrytyny < 50 mg/l czyni rozpoznanie anemii z niedoboru żelaza mało prawdopodobnym, choć nie wyklucza rozpoznania nowotworu jelita grubego (4). Unikalnym, ekonomicznym analizatorem przeznaczonym do szybkiej diagnostyki parametrów morfologicznych i CRP jest analizator ABX Micros CRP 200 firmy Horiba, który pozwala na równoczesne oznaczenie morfologii krwi oraz stężenia CRP. U wielu chorych z anemią z niedoboru żelaza występuje zwiększona liczba płytek krwi, która ustępuje po uzupełnieniu żelaza. Jeśli liczba płytek krwi normalizuje się, a przyczyna anemii jest znana, dalsza diagnostyka nie jest konieczna. Obecność mikrocytozy, podwyższone stę-

żenie hemoglobiny w krwinkach czerwonych (MCHC, *mean cell hemoglobin concentration*) i powiększenie śledziony to cechy charakterystyczne nabytej lub wrodzonej sferocytozy (5).

Trudności diagnostyczne może sprawiać różnicowanie anemii z niedoboru żelaza z anemią spowodowaną chorobami przewlekłymi. W różnicowaniu pomaga zachowanie się istotnych parametrów: z jednej strony niski poziom żelaza z podwyższoną zdolnością wiązania żelaza w anemii z niedoboru żelaza, a z drugiej strony niski lub prawidłowy poziom żelaza z prawidłową lub podwyższoną zdolnością wiązania żelaza w anemiach spowodowanych chorobami przewlekłymi. W tabeli 1 zestawiono zachowanie się podstawowych parametrów gospodarki żelazem pomocnych w różnicowaniu anemii z niedoboru żelaza z anemią spowodowaną przewlekłymi infekcjami. Jak pokazuje tabela, najważniejsze czynniki różniące to wartość całkowitej zdolności wiązania żelaza oraz stężenie ferrytyny. Stężenia ferrytyny jest zazwyczaj podwyższone w przewlekłych infekcjach, zaś obniżone w anemii z niedoboru żelaza. Wysycenie transferyny zazwyczaj osiąga bardzo niskie wartości

w anemii z niedoboru żelaza (< 20%), zaś w anemii spowodowanej przewlekłymi infekcjami pozostaje w przedziale 20–40%. Złotym standardem w rozpoznawaniu anemii z niedoboru żelaza jest nieobecność żelaza znakowanego (barwionego) błękitem pruskim, natomiast w anemii spowodowanej chorobami przewlekłymi żelazo jest obecne w makrofagach, lecz jego zawartość jest zmniejszona w prekursorach erytrocytów. Badanie to jednak zostało wyparte przez oznaczanie stężenia ferrytyny, ale ma znaczenie w diagnostyce anemii syderoblastycznej (5).

Niedokrwistości makrocytowe (wysoka wartość MCV)

Wartości MCV powyżej 115 fl spotykane są prawie wyłącznie w niedoborze witaminy B₁₂ lub kwasu foliowego oraz w chorobie zimnych aglutynin. W niedokrwistościach makrocytowych spowodowanych niedoborem witaminy B₁₂ lub kwasu foliowego występują opisane powyżej cechy megaloblastozy we krwi obwodowej oraz odnowa megaloblastyczna w szpiku. W chorobie zimnych aglutynin wysoka wartość odczytu MCV jest spowodowana aglutynacją erytrocytów. Podczas automatycznego zliczania analizator sztucznie zawyża wartość MCV, ponieważ liczy zagregowane erytrocyty jako pojedyncze komórki. Podwyższoną MCV spotyka się również w niedoczynności tarczycy, przysadki mózgowej, nadnerczy, niedokrwistościach hemolitycznych oraz w przewlekłej alkoholowej chorobie wątroby. Jeśli oznaczenie morfologii krwi jest wykonywane w czasie dynamicznej odnowy szpiku, której towarzyszy wzrost retikulocytów, to wartości MCV także są podwyższone, gdyż retikulocyty mają większą objętość od prawidłowych erytrocytów. Na uwagę zasługują również wysokie wartości MCV obserwowane w trakcie

leczenia metotreksatem lub hydroksymocznikiem, analogami puryn i wysokimi dawkami acyklowiru.

Niewielka makrocytoza jest czasem spotykana u zdrowych osób w wieku podeszłym, zwłaszcza u palaczy. Czasem również – choć rzadko – towarzyszy trudnej do rozpoznania bezobjawowej fazie choroby nowotworowej (6).

Niedokrwistości normocytowe (prawidłowa wartość MCV)

Niedokrwistości z prawidłowymi wartościami MCV występują w tak wielu stanach chorobowych, że wykrycie ich przyczyny wymaga wykonania szerokiego wachlarza badań diagnostycznych, które zostały zestawione poniżej. Jest to niewątpliwie najtrudniejsza grupa schorzeń, jeśli chodzi o dociekanie przyczyny anemii.

Badania laboratoryjne pomocne w ustaleniu przyczyny niedokrwistości normocytowej:

- badanie gospodarki żelazem (stężenie ferrytyny),
- badanie serologiczne (np. czynnik reumatoidalny, przeciwciała przeciwjądrowe, przeciwciała przeciwko dwuniciowemu DNA), jeżeli zachodzi podejrzenie chorób autoimmunologicznych,
- stężenia B₁₂ i kwasu foliowego,
- poziom mocznika i kreatyniny,
- badania funkcji wątroby,
- poziom białka całkowitego, elektroforeza białek i immunoelektroforezy,
- badania hormonów (tarczycy, kortyzolu, hormonu wzrostu), jeżeli zachodzi podejrzenie choroby gruczołów wewnętrznego wydzielania,
- badanie aspiracyjne szpiku kostnego i trepanobiopsja, jeżeli wykonane badania laboratoryjne nie dają odpowiedzi na temat przyczyny niedokrwistości lub anemia pogłębia się.

Bardzo użytecznym testem w diagnostyce różnicowej tego typu anemii jest oznaczenie bezwzględnej liczby retikulocytów we krwi obwodowej (prawidłowe wartości mieszczą się w przedziale 40.000–100.000/ml). Podwyższona liczba retikulocytów występuje w niedokrwistościach hemolitycznych, pokrwotocznych. Jeśli utrzymana jest prawidłowa funkcja szpiku, odpowiedź w postaci zwiększonej liczby retikulocytów pojawia się po 3–5 dniach i ustępuje po 10–14 dniach po ostrym epizodzie krwawienia lub hemolizy. Anemia z niską retikulocytozą sugeruje zmniejszone wytwarzanie erytrocytów w szpiku kostnym, zaś jeśli towarzyszy temu pancytopenia, to naprowadza ona na rozpoznanie anemii hipoplastycznej lub aplastycznej. Rozpoznanie tych stanów wymaga wykonania punkcji szpiku oraz trepanobiopsji i należy do specjalisty.

Znaczenie oceny stopnia anizocytozy w diagnostyce niedokrwistości

Ważną informację dla ustalenia przyczyny anemii normocytowej można uzyskać badając stopień anizocytozy (to znaczy zwiększonego odsetka krwinek czerwonych o różnych rozmiarach). Jest ona mierzona automatycznie przez analizatory i opisywana jako RDW (wskaźnik rozkładu obję-

tości krwinek czerwonych, ang. *red cell distribution width*). Określa on jednorodność populacji krwinek czerwonych. Wartości RDW powyżej 15% świadczą o zwiększonej heterogenności populacji krwinek czerwonych. Poza anemią spowodowaną przewlekłymi chorobami anizocytoza występuje w przewlekłych chorobach wątroby, nerek oraz endokrynopatiach. Anemia normocytowa z obecnością anizocytozy (anemia z podwyższoną wartością RDW) może też wystąpić we wczesnych okresach leczenia niedoborów żelaza, witaminy B₁₂ lub kwasu foliowego, anemiach hemolitycznych, nacieczeniu szpiku kostnego oraz anemiach spowodowanych przewlekłymi schorzeniami. Jak widać, obraz morfologii krwi należy zawsze interpretować łącznie z danymi klinicznymi, gdyż wiele z wcześniej omawianych typów niedokrwistości może przebiegać ze zwiększoną anizocytozą oraz prawidłowym MCV. Interpretacji wartości RDW dokonuje się zawsze w kontekście wartości MCV. Praktyczne aspekty zastosowania MCV oraz RDW zestawiono w tabeli 2.

1. Rozmaz krwi obwodowej

W interpretacji wyników badania morfologii krwi można bardzo łatwo popełnić pomyłki wynikające z obowiązującego w Polsce systemu badania morfologii krwi. W krajach zachodnich wynik badania uzyskany

Tabela 2. Zastosowanie RDW oraz MCV w diagnostyce niedokrwistości.

RDW	MCV		
	Niskie	Prawidłowe	Wysokie
Prawidłowe <15%	a- i b-talasemie u heterozygot	zatrucie ołowiem	niedokrwistość aplastyczna
Wysokie > 15%	niedobór żelaza	wczesny niedobór żelaza	noworodki, wcześniaki
	b-talasemia	choroby wątroby	niedobór wit. B ₁₂ i kwasu foliowego
		mieszane zaburzenia odżywiania	

z analizatora hematologicznego zawsze jest analizowany przez diagnostę laboratoryjnego, przeszkolonego w odczytywaniu rozmazów krwi obwodowej, a jeśli ma on wątpliwości – przez konsultanta, którym jest zazwyczaj hematolog z wieloletnim doświadczeniem w interpretacji rozmazów krwi obwodowej. Wynik uzyskany z analizatora jest więc zawsze tylko wynikiem wstępnym, od którego rozpoczyna się (a nie kończy) długi proces diagnostyczny. Im więcej parametrów ocenia analizator, tym więcej może wychwycić nieprawidłowości w rozmazie krwi obwodowej, drukując odpowiednie komentarze. Jednak nic nie zastąpi rozmazu krwi, ocenianego w badaniu mikroskopowym, który dostarcza wielu informacji odnośnie przyczyny niedokrwistości, a czasem pozwala na ustalenie jej przyczyny. Stwierdzenie np. rulonizacji erytrocytów nasuwa podejrzenie zaburzeń białkowych i może być pierwszym wynikiem morfologicznym służącym do dalszej diagnostyki w kierunku szpiczaka mnogiego, zaś obecność aglutynacji erytrocytów pozwala na rozpoznanie zimnych aglutynin.

Napodstawie badania rozmazu krwi obwodowej hematolog może podejrzewać anemię mikrocytową niedobarwliwą (najczęściej z niedoboru żelaza) i megaloblastyczną, talasemię, niedokrwistość sierpowatokrwinkową, niedokrwistość mikroangiopatyczną, niedokrwistość hemolityczną, białaczkę, małopłytkowość i agranulocytozę, jak też obecność komórek nowotworowych. Wszystkie te podejrzenia wymagają jednak dalszych badań, a często oceny morfologii szpiku celem końcowej weryfikacji rozpoznania.

2. Niedokrwistości o złożonej etiologii

Jeśli przyczyną anemii jest niedobór kilku czynników koniecznych do hemopoezy, to końcowy wynik MCV odzwierciedla tylko średnią objętość krwi-

nek czerwonych, a nie zmiany typowe dla danego rodzaju anemii. Zazwyczaj jednak w tego typu niedokrwistościach występuje zwiększona anizocytoza, której markerem jest podwyższona wartość RDW. Jeśli badanie morfologii krwi odbywa się w trakcie leczenia, interpretacja wyników jest trudna i zawsze należy zbadać rozmaz krwi obwodowej oraz poziom czynników niezbędnych do hemopoezy. Nie należy zapominać, że choć pod wynikiem badania podpisuje się diagnosta laboratoryjny, to za jego kliniczną interpretację odpowiada lekarz.

3. Dynamika zmian

Jeśli poziom hemoglobiny spada szybko, przyczyną tego spadku jest zazwyczaj krwawienie lub hemoliza. Szybki spadek hemoglobiny może również wystąpić po chemioterapii lub w następstwie uogólnionej infekcji, jednak zebrany wywiad oraz łatwo rozpoznawane stany infekcyjne nie nastroczają trudności w rozpoznaniu. O ile więc dwie ostatnie przyczyny łatwo potwierdzić, to różnicowanie pomiędzy krwawieniem lub hemolizą opiera się na objawach klinicznych i badaniu fizykalnym, ocenie rozmazu krwi obwodowej, jak również oznaczaniu poziomu bilirubiny, odczynu antyglobulinowego, liczby retikulocytów we krwi oraz poziomu haptoglobiny w surowicy. Jeśli jednak anemia trwa długo, a jej stopień regularnie się pogłębia, należy zawsze pamiętać, że najczęstszą przyczyną takiej sytuacji są ukryte i nierozpoznane choroby nowotworowe. Należy również pamiętać, aby nie rozpoczynać leczenia, jeśli nie zostanie ustalona przyczyna niedokrwistości, gdyż nawet po krótkotrwałej poprawie anemia nawróci, jeśli jej przyczyna została wskazana nietrafnie.

Tabela 3. Zestawienie niektórych objawów klinicznych ułatwiające interpretację morfologii krwi dla potrzeb lekarza podstawowej opieki zdrowotnej; wzorowane na (7), zmodyfikowane.

Obraz krwi obwodowej	Objawy kliniczne	Prawdopodobne rozpoznanie	Mało prawdopodobne rozpoznanie
Mikrocytoza	objawy utraty krwi, dysfagia, koilonychia	niedobór żelaza	anemia w chorobach przewlekłych, talasemie
Mikrocytoza	przewlekłe zapalenia	anemia w chorobach przewlekłych	niedobór żelaza
Makrocytoza	przedwczesne siwienie, biegunki, żółtaczka bez splenomegalii choroby autoimmunologiczne	anemia złośliwa	niedobór folianów, choroby wątroby
Makrocytoza	choroby wątroby lub tarczycy	choroby wątroby lub tarczycy	anemia megaloblastyczna
Makrocytoza	objawy neurologiczne: delirium, neuropatia, zwyrodnienie sznurów bocznych i tylnych rdzenia kręgowego, poprzeczne zapalenie rdzenia kręgowego	niedobór witaminy B ₁₂	niedobór folianów
Makrocytoza	ciąża, nadużywanie alkoholu, niedobory żywieniowe	niedobór folianów lub choroby wątroby	niedobór witaminy B ₁₂
Anemia normocytowa izolowane cytopenie	powiększona śledziona z nadciśnieniem wrotnym lub bez	hipersplenizm	hemoliza, niewydolność nerek, endokrynopatie
Anemia normocytowa	niewydolność nerek z niskim kliresem kreatyniny	anemia spowodowana niewydolnością nerek	hemoliza, hipersplenizm, endokrynopatie
Anemia normocyty + mikrocyty + makrocyty	niedobór B ₁₂ i kwasu foliowego	choroby z niedożywienia	jak wyżej
Erytrocytoza	przewlekłe choroby płuc	przewlekłe niedotlenienie	nieprawidłowa produkcja erytropoetyny, choroby mieloproliferacyjne
Erytrocytoza	guzy nerki, uropatia obstrukcyjna	guzy produkujące erytropoetynę (epo)	przewlekłe choroby płuc
Odczyn leukoerytroblastyczny	duża śledziona	zwłóknienie szpiku	odczynowe
Odczyn leukoerytroblastyczny	prawidłowe rozmiary śledziony	choroba nowotworowa, nacieczenie szpiku	zwłóknienie szpiku
Limfocytoza z obecnością atypowych limfocytów	prawidłowe rozmiary śledziony	choroba nowotworowa, nacieczenie szpiku	zwłóknienie szpiku
Eozynofilia	objawy niedoboru żelaza	zakażenie tęgorojcem dwunastnicy	zespół hipereozynofilowy, alergia
Eozynofilia	zwłóknienie endomiokardialne, zastoinowa niewydolność krążenia	zespół hipereozynofilowy	eozynofilia reaktywna
Eozynofilia	objawy neurologiczne	zespół hipereozynofilowy	reaktywna eozynofilia
Neutropenia	choroby autoimmunologiczne	neutropenia AI	pierwotna choroba szpiku kostnego
Neutropenia	reumatoidalne zapalenie stawów	zespół Felty'ego lub neutropenia polekowa	pierwotna choroba szpiku kostnego
Trombocytoza	ataki padaczki: „petit mall”, objawy migreny, „amaurosis fugax”	pierwotna nadpłytkowość	trombocytoza reaktywna
Trombocytoza, anemia mikrocytarna	wypadanie włosów, łamliwość paznokci, koilonychia	anemia z niedoboru żelaza	anemie spowodowane chorobami przewlekłymi
Trombocytopenia, anemia	sztuczne zastawki serca	mechaniczna destrukcja płytek	małopłytkowość samoistna
Trombocytopenia, anemia	objawy niewydolności nerek, objawy neurologiczne	zakrzepowa plamica małopłytkowa, zespół hemolityczno-mocznicowy	małopłytkowość samoistna
Pancytopenia	duża śledziona	hipersplenizm, nacieczenie szpiku kostnego	aplazja szpiku
Polycytemia	duża śledziona, świąd skóry	czerwienica prawdziwa	odwodnienie, zespół Cushinga
Polycytemia	objawy cushingoidalne	choroba Cushinga	czerwienica prawdziwa, odwodnienie

W tabeli 3 zestawiono najczęstsze objawy kliniczne użyteczne w procesie interpretacji obrazu morfologii krwi dla potrzeb lekarza rodzinnego. Aby uczynić to zestawienie jak najbardziej czytelnym, liczbę ob-

jawów klinicznych ograniczono do najważniejszych i najczęściej występujących. W analogiczny sposób wyselekcjonowano rozpoznania prawdopodobne i mało prawdopodobne (rozpoznanie różnicowe).

Piśmiennictwo:

1. Nutritional anaemias. Report of WHO Scientific Group. World Health Organ. Techn. Rep. Ser. 1968, 4055.
2. Epstein R.J.: Medicine for Examinations. 3-rd ed. Churchill Livingstone 1996.
3. Guyatt G.H., Patterson K., Ali M. i wsp.: Diagnosis of iron-deficiency anemia in the elderly. Am. J. Med. 1990, 88, 205-211.
4. Joosten E., Meeuwissen J., Vanderwinckele H. i wsp.: Iron status and colorectal cancer in symptomatic elderly patients. Am. J. Med. 2008, 121, 1072-79.
5. Beck N.: Diagnostic Hematology. Springer-Verlag London Limited, 2009, 8, 219-244.
6. Nguyen D.T., Diamond L.: Macrocytosis pattern (W): Diagnostic Hematology: A Pattern Approach Arnold. A member of the Holder Headline Group, London, 2003, 125-133.
7. Beck N.: Diagnostic Hematology. Springer-Verlag London Limited, 2009, 8, 219-244.

dr hab. n.med. Andrzej Pluta

*kierownik Oddziału Hematoonkologii
Podkarpacki Ośrodek Onkologiczny w Brzozowie
ul. Ks. Bielańskiego 16
36-200 Brzozów*

dr n.med. Krzysztof Gutkowski

*Instytut Fizjoterapii
Uniwersytet Rzeszowski
ul. Rejtana 15
Rzeszów
dyrektor Instytutu prof. dr hab. med. Andrzej Kwolek*

UWAGA NA BARDZO WYSOKIE WARTOŚCI WITAMINY B₁₂

Obniżone stężenia witaminy B₁₂ – nawet poniżej granicy wykrywalności, są spowodowane, ogólnie mówiąc, niedostateczną jej podażą w diecie lub zaburzeniami wchłaniania. Często zapomina się jednak o stanach klinicznych, w których obserwujemy wysokie, a nawet bardzo wysokie wartości. Do stanów tych zaliczyć można:

wysoką eozynofilię	10000–25000 pmol/l
przerzuty nowotworowe do wątroby, ostre zapalenie wątroby, marskość, rak pierwotny wątroby	5000–10000 pmol/l
mukowiscydozę	2500–5000 pmol/l

PODWYŻSZENIE STĘŻENIA POTASU BEZ OBJAWÓW KLINICZNYCH

Pseudohiperkaliemia jest definiowana jako znaczące podwyższenie stężenia potasu w surowicy przy braku objawów klinicznych, wskazujących na zaburzenia równowagi kwasowo-zasadowej i wodno-elektrolitowej. Poniżej zestawiono szereg czynników prowadzących do pseudohiperkaliemii. Niektóre z nich są dobrze znane i oczywiste, natomiast na inne zwraca się mniej uwagi.

- Czynniki związane z samą techniką pobierania krwi, jak: mocne zaciskanie pięści przez pacjenta, „masowanie” przedramienia przez osobę pobierającą bezpośrednio przed pobraniem w celu lepszego uwidocznienia żyły, zanieczyszczenie potasem pochodzącym z wlewu dożylnego lub zawartego w antykoagulancie (sól potasowa EDTA).
- Czynniki związane z transportem i przechowywaniem, jak: zbyt długie przechowywanie pełnej krwi przed odwirowaniem, szczególnie w niskich temperaturach, transport przy pomocy poczty pneumatycznej.
- Stany kliniczne związane z wysoką leukocytozą, trombocytozą, zmianami morfologicznymi krwinek czerwonych.
- Hemoliza.
- Tzw. odwrotna pseudohiperkaliemia, kiedy poziom potasu jest prawidłowy w surowicy, natomiast podwyższony w osoczu heparynowym, co jest najprawdopodobniej wynikiem interakcji heparyny z błonami komórkowymi krwinek.

KRYTERIUM DIAGNOSTYCZNE HIPOGLIKEMII U NOWORODKÓW

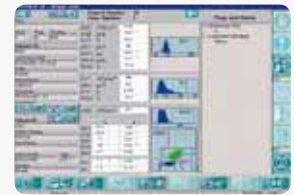
W lutym 2012 r. na forum Amerykańskiego Stowarzyszenia Chemii Klinicznej (American Association for Clinical Chemistry, AACC) po raz kolejny zostało postawione pytanie, dotyczące kryterium diagnostycznego dla hipoglikemii u noworodków. Wiadomo, że u noworodków stężenie glukozy jest fizjologicznie obniżone, natomiast są duże rozbieżności odnośnie wartości krytycznych. Wśród pediatrów przeważa pogląd, że większe znaczenie niż stężenie glukozy mają objawy kliniczne i dane z wywiadu. Wartości, które są podawane przez różne źródła, wahają się pomiędzy 40 a 50 mg/dl.

Powyższe informacje pochodzą ze strony www.aacc.org, NACBBlog luty, kwiecień 2012.

ABX Pentra XL80

Precyzyjne zarządzanie kontrolą jakości zgodne z wymogami akredytacyjnymi laboratorium

- 80 testów na godzinę
- zautomatyzowany podajnik na 100 próbek
- rotacyjne mieszanie probówki przed aspiracją
- automatyczne rozcieńczanie próbek (opcja CDR)
- możliwość szczegółowej oceny wyników patologicznych (opcja re-run) oraz precyzyjnej weryfikacji próbki i pacjenta, dzięki kontroli Delta Check.



HORIBA
Medical

PENTRA DX 120 z modulem **SPS Evolution** i systemem mikroskopowym **HemaCAM**

gwarantują standaryzację procedur i zapewniają wysoką jakość badań hematologicznych

SPS Evolution



zintegrowany moduł do wykonywania i barwienia preparatów mikroskopowych



HemaCAM



w pełni zautomatyzowany system mikroskopowy, pozwalający na szybkie i powtarzalne zliczanie komórek w rozmazach krwi

- intuicyjne oprogramowanie
- klasyfikacja zliczanych krwinek do poszczególnych subpopulacji WBC
- możliwość dostosowania konfiguracji bazy danych przez laboratorium
- identyfikacja i cyfrowe przechowywanie plików pacjenta

HORIBA
Medical

HORIBA ABX Sp. z o.o., Wał Miedzeszyński 598, 03-994 Warszawa, tel. +48 22 673 20 22, fax +48 22 673 20 26, www.horiba-abx.com.pl