

SPIS TREŚCI

- 3** Rola medycyny laboratoryjnej w kardiologii klinicznej:
biomarkery sercowe AD 2011
The role of laboratory medicine in clinical cardiology:
cardiac biomarkers AD 2011
Dariusz Sitkiewicz
- 12** Nowe wyzwania dla starych markerów
New challenge for old markers
Dagna Bobilewicz
- 16** Interpretacja wyniku badania morfologii krwi
Interpretation of results of complete blood count
Wiesław Wiktor Jędrzejczak
- 25** Badania hematologiczne i immunoematologiczne wykonywane
na potrzeby krwiodawstwa i krwiolecznictwa
Haematological and immunoematological examinations
performed on blood donors and on blood recipients
Elżbieta Klaus
- 31** 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: Justyna Głowienka-Korzeń

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: 3000 egz.

styczeń 2011

Zasady publikowania prac w IN VITRO EXPLORER

do wglądu u p. Renaty Polkowskiej

e-mail: renata.polkowska@horiba.com

ROLA MEDYCYNY LABORATORYJNEJ W KARDIOLOGII KLINICZNEJ: BIOMARKERY SERCOWE AD 2011

THE ROLE OF LABORATORY MEDICINE IN CLINICAL CARDIOLOGY: CARDIAC BIOMARKERS AD 2011

Dariusz Sitkiewicz

Streszczenie

Szybkie rozpoznanie pacjentów z objawami sugerującymi ostre zespoły wieńcowe ma duże znaczenie kliniczne. Obecnie istotną rolę w procesie diagnostycznym odgrywają laboratoryjne markery sercowe – przede wszystkim troponiny. Nowe testy troponinowe o wysokiej czułości pozwalają na potwierdzenie obecności martwicy miokardium już w przedziale do trzech godzin od wystąpienia objawów klinicznych. Testy troponinowe o wysokiej czułości stworzyły jednak szereg problemów w ich interpretacji klinicznej. Zaistniała konieczność najlepszych diagnostycznych poziomów odcięcia (cut-off) oraz wykorzystywanych do oceny ryzyka. Te punkty odcięcia powinny uwzględniać wiek, płeć oraz naturalną zmienność biologiczną zarówno krótko- jak i długookresową.

W diagnostyce, ale przede wszystkim w trafnym wyborze postępowania z pacjentem mogą odegrać rolę także inne markery niesercowego pochodzenia, np. mieloperoksydaza (MPO) czy związana z lipoproteidami fosfolipaza A₂ (Lp-PLA₂). Oba te enzymy są bowiem zaangażowane w inicjację i progresję miażdżycy, a także jej klinicznych powikłań. Stanowią one potencjalnie istotne markery pozwalające ocenić ryzyko u pacjentów z objawami sugerującymi ostre zespoły wieńcowe. Dla oceny ryzyka sercowo-naczyniowego istotne są patogenetyczne związki pomiędzy funkcją nerek a funkcją serca. W tym obszarze ważnym markerem wydaje się cystatyna C, która jest nie tylko wczesnym, przedklinicznym wskaźnikiem funkcji nerek, ale także istotnym markerem ryzyka sercowo-naczyniowego.

Słowa kluczowe

Ryzyko sercowo-naczyniowe, troponiny, MPO, Lp-PLA₂, cystatyna C.

Summary

The rapid evaluation of patients with symptoms suggesting an acute coronary syndrome is of great clinical relevance. Biomarkers have become increasingly important in this setting. Today, cardiac troponin is still the only marker used routinely in this setting due to its myocardial tissue specificity and sensitivity, as well as its established usefulness for therapeutic decision making. Novel high-sensitivity assays for cardiac troponin (hs-cTn) demonstrate better detection of myocardial damage even in patients presenting in the first 3 hours since symptom onset. Recent papers indicate that population based reference intervals are less useful for interpreting hs-cTn values because of short and long term biological variation. Further studies are needed to answer some critical questions regarding the best cut-offs for diagnosis and risk assessment.

Other non-myocardial tissue-specific markers might help in this setting. Myeloperoxidase and Lp-PLA₂ reflect different aspects of the development of atherosclerosis or acute ischemia. Each has demonstrated impact in risk stratification of acute coronary syndromes, but further evaluation is needed before these markers can be adopted routinely in clinical practice.

Interaction between heart and kidney dysfunction of each or both organs has practical clinical implication. Patients with chronic kidney disease (CKD) are at risk for developing cardiovascular disease (CVD) and cardiovascular events. Prospective studies have shown that patients with increased cystatin C are at higher risk of both CVD and CKD. Independently, cystatin C appears to be useful marker for identifying individuals at higher risk for cardiovascular events.

Key words

Cardiovascular risk, troponin, MPO, Lp-PLA₂, cystatin C.

1. Wprowadzenie

W ostatnich dwóch dekadach nastąpił wyraźny wzrost znaczenia medycyny laboratoryjnej w praktyce klinicznej. Biochemiczne markery stanowią istotną pomoc w rozpoznaniu stanów subklinicznych wielu chorób, np. raka gruczołu krokowego (PSA), w diagnostyce stanów ostrych i/lub przewlekłych, np. niewydolności serca (BNP), w ocenie ryzyka w ostrych zespołach wieńcowych (troponiny) czy monitorowaniu rozwoju choroby lub efektów leczenia, np. cukrzycy (hemoglobina A1c).

Poza onkologią kardiologia jest areną, na której odbywają się najbardziej intensywne poszukiwania nowych biomarkerów. Wydaje się jednak, że większość z nich nie reprezentuje markerów o istotnej roli diagnostycznej, prognostycznej i/lub determinantów procesu leczenia (tabela 1). Obecnie na podstawie kryteriów medycyny laboratoryjnej opartej na dowodach naukowych udowodniono przydatność kliniczną tylko czterech z nich. Są to: 1) **sercowe troponiny I i T** – standardowe biomarkery diagnostyczne zawału mięśnia serca i oceny ryzyka pacjentów z ostrymi zespołami wieńcowymi; 2) **peptyd natriuretyczny typu B** (BNP i NT-proBNP) – w diagnostyce ostrej i przewlekłej niewydolności serca, dostarczający także informacji prognostycznych oraz o skuteczności wdrożonego leczenia; 3) **CRP** – biomarker związany ze wzrostem ryzyka sercowo-naczyniowego i identyfikujący osoby, które mogą odnieść znaczące korzyści z intensyfikacji leczenia statynami; 4) **dimer D** – marker pozwalający wykluczyć zakrzepicę żył głębokich oraz zatorowość płucną. Znajomość kontinuum patofizjologicznego prowadzącego do miażdżycy i jej klinicznych powikłań pozwala na wytypowanie dodatkowych nowych biomarkerów. Ostania dekada przyniosła przekonywujące dowody o podstawowej roli stanu zapalnego w inicjacji i pro-

gresji miażdżycy, a także jej powikłań w postaci ostrych zespołów wieńcowych [1, 2]. Obecnie powszechnie akceptowany jest pogląd, iż komórkowy stres oksydacyjny i przewlekły stan zapalny są wspólnie zaangażowane w patogenezie miażdżycy [3, 4].

Coraz więcej danych doświadczalnych wskazuje, że stres oksydacyjny i reaktywne formy tlenu (RFT) stanowią drugorzędowy przekaźnik sygnałów zaangażowanych w regulację ekspresji prozapalnych genów i ich produktów, takich jak cytokiny (IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α) i molekuly adhezyjne (ICAM, VCAM, MCP-1) [5, 6]. Zwiększona ekspresja tych genów promuje infiltrację monocytów do ściany naczynia. Proces ten prowadzi do nasilenia lokalnego stanu zapalnego i w konsekwencji do dysfunkcji śródbłonna naczyniowego. Kluczowym elementem tego mechanizmu wydaje się być jądrowy czynnik transkrypcyjny NF κ B, należący do rodziny czynników transkrypcyjnych wrażliwych na stres oksydacyjny [5].

2. Troponiny: czy postęp analityczny oznacza również postęp kliniczny?

Historia troponin rozpoczęła się jeszcze w latach 80. ubiegłego stulecia. Przełomowym momentem okazał się jednak ostatni rok XX wieku, kiedy to opublikowano dokument Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego i Amerykańskiego Kolegium Kardiologów o redefinicji zawału mięśnia sercowego [7]. W dokumencie tym uznano sercowe izoformy troponiny T lub I za złoty standard w diagnostyce zawału. Dokument ten definiował zawał jako kliniczną sytuację, w której stężenie troponin w surowicy krwi przekroczy poziom 99. percentyla wyznaczonego dla zdrowej populacji. Jednocześnie dodano warunek, aby precyzja oznaczeń na tym poziomie stężeń nie przekraczała CV 10%. Ten warunek okazał się jednak dla ówczesnych testów bardzo trudny do spełnienia. Opublikowany

Tabela 1. Znaczenie kliniczne niektórych biomarkerów sercowo-naczyniowych.

MARKER	Oddziaływanie prognostyczne	Znaczenie diagnostyczne	Oddziaływanie terapeutyczne
Markery martwicy			
CK-MB	+++	+++	++
Mioglobina	++	??	++
Troponiny	++++	++++	++++
Markery dysfunkcji serca			
ANP	+++	+++	?
BNP	++++	++++	+++
Markery zapalne			
CRP	++++	?	++
Adiponektyna	++	?	?
IL-6	+++	?	?
Markery niedokrwienia			
Cholina	++	?	?
IMA	+	+	?
Markery destabilizacji/ /uszkodzenia blaszki miażdżycowej			
Lp-PLA ₂	+++	?	?
MPO	+++	++	?
PAPPA	+++	+	?
s-ICAM	+++	?	?
Markery aktywacji płytek			
s-CD40L	++/?	?	?
s-selektyna P	++	?	?

+ dowody z obserwacji klinicznych na niewielkich grupach pacjentów

++ dowody z kilku badań lub jednego dużego badania klinicznego

+++ dowody z kilku dużych badań klinicznych

++++ dowody z szerokich, wiarygodnych badań klinicznych

? sprzeczne wyniki badań lub brak danych.

w 2004 roku raport Komitetu Standaryzacji Markerów Uszkodzenia Serca IFCC wyraźnie pokazał, że żaden z dostępnych na rynku testów troponinowych nie osiągał precyzji CV <10% na poziomie stężenia 99. percentyla przyjętego jako limit referencyjny definiowany przez producenta testu [8]. Istotnym ograniczeniem ówczesnych testów troponinowych była ich stosunkowo niewielka czułość w pierwszych godzinach zawału, a także niemożność identyfikacji za ich pomocą niestabilnej choroby wieńcowej oraz pacjentów z bólem w klatce piersiowej niesercowego pochodzenia. Generacje testów troponinowych wprowadzanych 5–10 lat temu pozwalały na detekcję uszkodzenia miokardium, obniżając liczbę pacjentów z ostrymi zespołami wieńcowymi, u których nie dochodziło do wzrostu stężenia troponin, z około 60% do około 30% [9].

Nowe wysokoczułe testy troponinowe umożliwiły dalszy wzrost tych parametrów diagnostycznych. Czułość diagnostyczna zawału w momencie prezentacji pacjenta w szpitalu wzrosła z ~70% do ~90%. Niestety jest to związane z obniżeniem zarówno klinicznej swoistości diagnostycznej zawału z 97% do 90%, jak i dodatniej wartości predykcyjnej z 85% do 77% [10, 11].

Innym niezwykle ważnym elementem stosowania testów o wysokiej czułości analitycznej jest możliwość diagnozowania zawału w pierwszych trzech godzinach od wystąpienia objawów klinicznych. Współczesne testy troponinowe pozwalają oznaczyć stężenie cTnI w surowicy osób z normalnej referencyjnej populacji [12]. Z drugiej strony okazuje się, że stężenie cTnI jest zależne od wieku, płci i funkcji nerek [13]. Niezwykle ważną wydaje się obserwacja potwierdzająca istotną krótko-(godziny) i długo-

okresową (tygodnie) zmienność stężenia cTnI [14]. Dane te zdają się wskazywać na konieczność podjęcia szczegółowych badań nad określeniem stężenia cTnI różnicującego pacjentów na różnych etapach kontinuum patofizjologicznego, a zatem także w różnych sytuacjach klinicznych (rycina 1).

3. Nowe biomarkery „niesercowego” pochodzenia

W ostatnich latach obserwujemy coraz większe zainteresowanie biomarkerami stanu zapalnego, które mogą być użyteczne w predykcji indywidualnego ryzyka wystąpienia zdarzeń sercowo-naczyniowych [15]. Mogą one dostarczyć dodatkowych informacji, które będą komplementarne do informacji uzyskiwanych z oznaczenia stężenia sercowych troponin. Aby określić przydatność kliniczną nowych markerów, należy poszukiwać odpowiedzi na trzy podstawowe pytania:

- Czy możliwe jest łatwe, szybkie i precyzyjne oznaczenie?
- Czy wynik oznaczenia dostarcza nowych, dodatkowych informacji?
- Czy będzie on pomocny w wyborze sposobu postępowania z pacjentem?

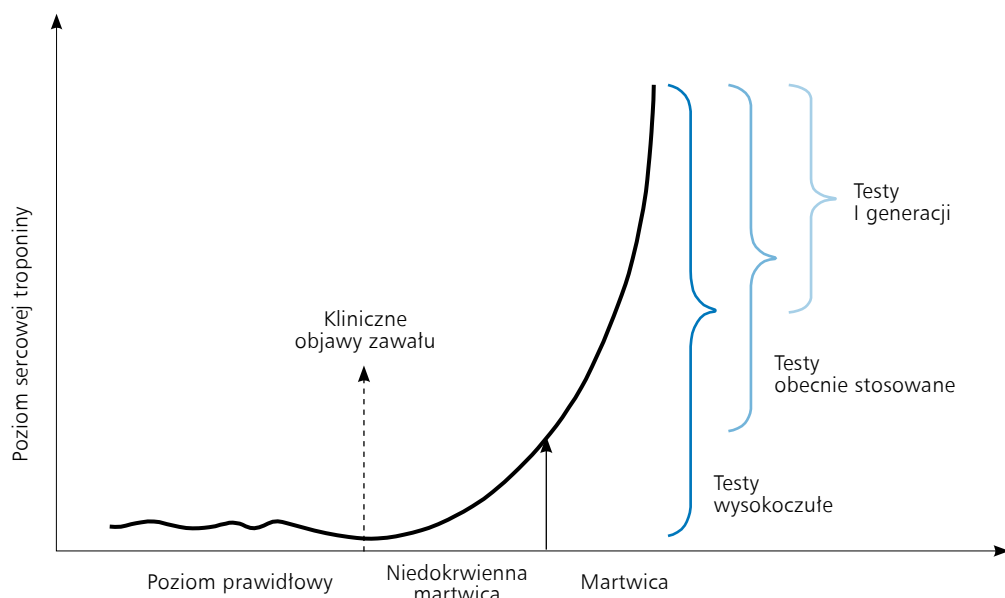
W ostatnich latach wiele uwagi przyciągają dwa enzymy: mieloperoksydaza (MPO) oraz związana z lipoproteinami fosfolipaza A2 (Lp-PLA2) jako markery zapalenia i jednocześnie istotni uczestnicy procesów tak aterogenezy, jak i destabilizacji blaszki miażdżycowej, a więc bezpośrednio odpowiedzialnych za wystąpienie ostrych zespołów wieńcowych.

Mieloperoksydaza jest hemoproteidem o masie cząsteczkowej 145 kDa. Stanowi składnik białych krwinek, którego funkcją jest obrona przeciwko mikroorganizmom. Aktywacja leukocytów powoduje sekrecję MPO, która katalizuje zależną od nadtlenu wodoru peroksydację jonów chlorkowych zgodnie z reakcją:

$$H_2O_2 + Cl^- + H^+ \rightarrow HOCl + H_2O.$$

Produkty reakcji powodują uszkodzenia w miejscu zapalenia i jednocześnie oksydatywną modyfikację LDL (ox-LDL) [16]. Utlenienie LDL przez MPO polega na chlorowaniu i nitrowaniu reszt tyrozyny w apolipoproteinie B. MPO występuje w rozpuszczalnej formie we krwi, ale z powodu jej silnie kationowego punktu izoelektrycznego ($P_i > 10$) może wiązać się zarówno z komórkami śródbłonna, jak i cząstkami LDL. Wykazano ostatnio, że katalizowana przez MPO modyfikacja LDL nie jest ograniczona do przestrzeni subendotelialnej, ale zachodzi także na powierzchni komórek śródbłonna naczyniowego [17].

Działanie MPO nie ogranicza się jedynie do LDL, ale obejmuje również HDL. Lipoproteiny o wysokiej gęstości (tzw. dobry cholesterol HDL) wykazują działanie antyaterogenne poprzez zwrotny transport cholesterolu via transporter ABCA-1, ale także dzięki właściwościom antyoksydacyjnym i przeciwzapalnym. Liczne badania ostatnich lat wskazują na obecność dysfunkcyjnych cząstek HDL, które nie wykazują ateroprotekcyjnego działania, a wręcz wywołują efekt prozapalny [18]. Wykazano, że mechanizm odpowiedzialny za powstawanie dysfunkcyjnych cząstek HDL polega na katalizowanej przez MPO oksydacyjnej modyfikacji apolipoproteiny A-1 (apoA-1). MPO jest więc nie tylko markerem, ale również aktywnym czynnikiem determinującym rozwój miażdżycy i ostrych zespołów wieńcowych, a jej znaczenie predykcyjne potwierdzono w wielu badaniach klinicznych. Zwiększoną aktywność MPO stwierdzono u pacjentów z angiograficznie potwierdzoną chorobą wieńcową [19]. Obecność MPO wykazano również w niestabilnych blaszkach miażdżycowych, co sugeruje jej udział w aktywacji kaskady proteaz prowadzącej do uszkodzenia i trombogenności blaszki. Badania CAPTURE wykazały, że poziom MPO pozwala ocenić ryzyko u pacjentów z ostrymi zespołami wieńcowymi [20]. Wyniki badań Brennana i wsp. wskazują,



Ryc. 1. Zakres detekcji różnych testów troponinowych.

że na podstawie poziomu MPO można zidentyfikować pacjentów, u których istnieje wysokie ryzyko wystąpienia incydentów wieńcowych, nawet jeśli nie doszło do martwicy komórek mięśnia sercowego [22]. Pojawiają się jednak doniesienia negujące przydatność oznaczania MPO u pacjentów z bólem w klatce piersiowej [23], a także z objawami duszności [24]. Związana z lipoproteinami fosfolipaza A2 (Lp-PLA2) należy do rodziny wewnątrzkomórkowych fosfolipaz hydrolizujących fosfolipidy błon komórkowych i lipoprotein. Lp-PLA2 jest jednak ściśle związana z cząsteczkami LDL i odpowiada za hydrolizę utlenionych fosfolipidów. W przeciwieństwie od innych fosfolipaz Lp-PLA2 nie wykazuje aktywności w stosunku do naturalnych fosfolipidów błonowych, a jej aktywność nie jest zależna od obecności jonów wapnia. Specyficzną cechą tego enzymu jest również bardzo niska aktywność w stosunku do nieutlenionych fosfolipidów obecnych na powierzchni cząstek LDL. Stafforini i wsp. wykazali bezpośrednią interakcję Lp-PLA2 z karboksylowym końcem łańcucha polipeptydowego apolipoproteiny B-100 [25]. Około 80%

Lp-PLA2 występuje w formie związanej z cząstkami LDL. Po wnikięciu LDL do przestrzeni subintymalnej znajdujące się na ich powierzchni fosfolipidy są utleniane przez różne układy enzymatyczne, głównie przez MPO i NADPH-oksydazę. Tak zmodyfikowane cząsteczki LDL (ox-LDL) stają się substratem dla Lp-PLA2. W wyniku reakcji hydrolizy powstają dwa produkty: utlenione kwasy tłuszczowe oraz lizofosfatydylocholina (lizo-PC). Oba są wyzwalaczami uruchamiającymi kaskadę zapalną. Zarówno utlenione kwasy tłuszczowe, jak i lizo-PC stymulują ekspresję cząstek adhezyjnych i cytokin przez komórki śródbłonna, a także zawarte w blaszkach miażdżycowych makrofagi i leukocyty. Efektem tych procesów jest wzmożony transport monocytów do przestrzeni subintymalnej, gdzie są one aktywowane i różnicowane w makrofagi.

Lp-PLA2 jest syntetyzowana lokalnie w obrębie blaszki miażdżycowej, co świadczy o wysokiej swoistości tego enzymu w stosunku do procesów zachodzących w ścianie naczyniowej w przeciwieństwie do innych markerów obrazujących ogólny stan zapalny. Wysokie

stężenia Lp-PLA2 występują w podatnych na uszkodzenie blaszkach miażdżycowych w przeciwieństwie do blaszek stabilnych we wczesnych etapach aterosklerozy. Zachodzi pytanie, czy syntetyzowana w blaszce miażdżycowej Lp-PLA2 pojawia się w krążeniu wieńcowym? Odpowiedź na nie przynoszą badania Lavi i wsp., którzy wykazali obecność zarówno Lp-PLA2 i lizo-PC w krążeniu wieńcowym pacjentów, u których metodą trójwymiarowej wewnątrznaczyniowej ultrasonografii stwierdzono obecność niestabilnych blaszek miażdżycowych [26]. Różnica w stężeniach Lp-PLA2 pomiędzy pacjentami ze zmianami miażdżycowymi a pacjentami bez takich zmian była wysoce znamienna statystycznie ($p=0,001$) i korelowała z procentową objętością blaszki miażdżycowej. Badania te wykazały ponadto, że w zmienionych miażdżycowo naczyniach wieńcowych nie dochodzi do syntezy netto CRP, co potwierdza hipotezę, iż białko C-reaktywne jest jedynie markerem ogólnego stanu zapalnego. Wydaje się, że Lp-PLA2 jest aktywnym komponentem nie tylko mechanizmu aterosklerozy, ale także procesów prowadzących do destabilizacji blaszki miażdżycowej, czyniących ją podatną na uszkodzenie. Kluczowym jest fakt, że Lp-PLA2 może być czynnikiem sygnalizującym obecność blaszek niestabilnych. W szerokich prospektywnych badaniach epidemiologicznych wykazano istotny statystycznie związek Lp-PLA2 z występowaniem ostrych incydentów wieńcowych i udarów. Podwyższony poziom Lp-PLA2 (najwyższy kwintyl w porównaniu do najniższego) powoduje dwukrotny wzrost ryzyka u pacjentów z chorobą wieńcową [27, 28].

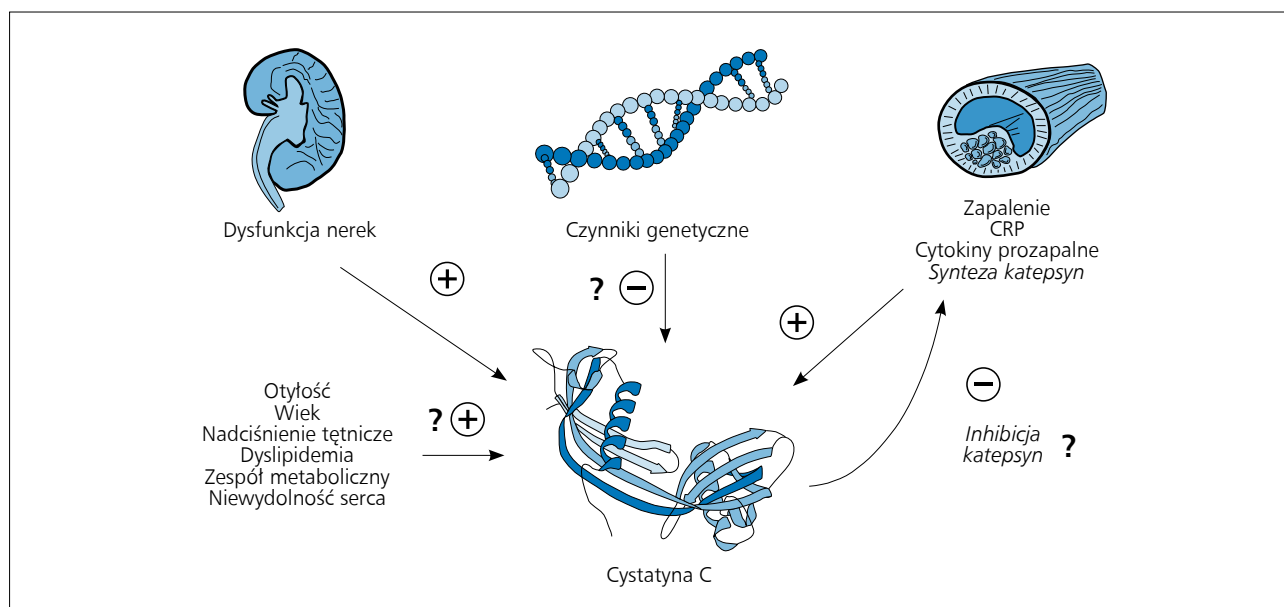
Podwyższone stężenia tych markerów mimo nieobecności sercowych troponin I lub T mogą świadczyć o aktywnym procesie zapalnym toczącym się w obrębie blaszki miażdżycowej, a zatem również o wysokim ryzyku uszkodzenia i rozwoju martwicy kardiomiocytów. Ocena ryzyka jest podstawowym determinan-

tem wielu istotnych decyzji klinicznych. Biochemiczne markery pozwalają ocenić krótko- i długoterminowe ryzyko wystąpienia różnych zdarzeń kardiologicznych, jak nagły zgon sercowy, powtórny zawał czy konieczność pilnej interwencji wieńcowej i/lub wszczęcia pomostów aortalno-wieńcowych. Wydaje się, że te markery spełniają kryterium dostarczania nowych istotnych informacji, które mogą usprawnić proces podejmowania decyzji dotyczących postępowania z pacjentem i wdrożenia odpowiedniej terapii. Decyzje te mają wpływ nie tylko na stan kliniczny pacjenta, ale również na sposób i koszty leczenia.

4. Nerki i serce – fatalne bliźniaki?

Coraz więcej danych wskazuje, że uszkodzenie nerek jest niezależnym czynnikiem ryzyka złego rokowania u pacjentów z chorobami sercowo-naczyniowymi. Skrajnej chorobie nerek towarzyszy wzrost zdarzeń wieńcowych i względnie wysokie ryzyko śmierci w następstwie zawału mięśnia sercowego. Staje się to ważnym problemem klinicznym w skali światowej, bowiem w ostatnich latach jesteśmy świadkami istniejącej epidemii przewlekłej choroby nerek. Ocenia się, że w Stanach Zjednoczonych tą patologią obarczone jest aż 13% populacji (340 000 przewlekle dializowanych oraz 140 000 po transplantacji nerek).

Za przyczynę rozwoju większości przypadków przewlekłej choroby nerek uważa się głównie cukrzycę i nadciśnienie tętnicze. W efekcie kompleksowego uszkodzenia kłębuszków nerkowych, powodowanego przez hiperfiltrację nerkową, zmiany strukturalne oraz uszkodzenie naczyń przez stan zapalny, dochodzi do obniżenia szybkości przesączania kłębuszkowego (eGFR) i mikroalbuminurii. Przewlekła choroba nerek jest czynnikiem ryzyka rozwoju niewydolności serca, nasila stopień uszkodzenia układu sercowo-naczyniowego i progresję choroby; dotyczy to szczególnie osób w podeszłym wieku.



Ryc. 2. Proponowane mechanizmy związku pomiędzy dysfunkcją nerek, stanem zapalnym, ateroszęzłą i zdarzeniami sercowo-naczyniowymi.

W naturalnym przebiegu niewydolności serca nerki stają się w pewnym sensie ofiarą wielu powikłań. Oba te stany patologiczne mają wiele wspólnych czynników etiologicznych, a także mechanizmów patogenetycznych. Obrazem klinicznym współzależności pomiędzy funkcją nerek a chorobami sercowo-naczyniowymi jest zespół sercowo-nerkowy (ang. cardiorenal syndrome, CRS) [29]. CRS jest definiowany jako patofizjologiczne zmiany funkcji serca i nerek, kiedy dysfunkcja jednego narządu może indukować ostrą lub przewlekłą dysfunkcję drugiego. Zaproponowano następującą klasyfikację tego zespołu wyróżniającą pięć jego typów. **Typ 1** odzwierciedla wpływ ostrych zmian funkcji serca (np. szok kardiogeny lub dekompensacja przewlekłej niewydolności serca) na ostrą dysfunkcję nerek. **Typ 2** uwzględnia przewlekłe stany niewydolności serca, które prowadzą do przewlekłych stanów niewydolności nerek. **Typ 3** to oddziaływanie niejako odwrotne, kiedy dysfunkcja nerek (np. ostre niedokrwienie nerek lub zapalenie kłębuszków nerkowych) powoduje ostre efekty w sercu (np. niewydolność,

arytmie czy zmiany niedokrwienne). **Typ 4** opisuje stan, w którym przewlekłe choroby nerek prowadzą do zmian funkcji serca, np. przerost/remodeling komór, a także wzrost ryzyka wystąpienia incydentów wieńcowych. **Typ 5** to wtórne oddziaływanie chorób układowych (np. cukrzycy czy sepsy), które powodują jednocześnie zarówno uszkodzenie funkcji serca, jak i nerek.

Istotną rolę we wczesnej diagnostyce zespołu sercowo-nerkowego odgrywa szereg biomarkerów, z których najważniejsze wydają się być eGFR, cystatyna C oraz NGAL. Szczególne zainteresowanie kardiologów wzbudza cystatyna C. W ostatnich latach ukazało się wiele doniesień o związkach cystatyny C z ryzykiem sercowo-naczyniowym [30, 31, 32, 33, 34].

Cystatyna C jest białkiem o ciężarze cząsteczkowym 13 kDa. Należy do rodziny kompetycyjnych inhibitorów lizosomalnej proteazy cysteinowej. Syntetyzowana jest ze stałą szybkością we wszystkich komórkach zawierających jądro. Ze względu na fakt, że białko to jest filtrowane w kłębuszkach, całkowicie reabsorbowane i katabolizowane w kanalikach

proksymalnych i przy braku sekrecji w kanalikach, stężenie cystatyny C w surowicy zależy niemal całkowicie od szybkości przesączania kłębuszkowego (GFR). W ostatnich latach coraz więcej doniesień sugeruje, że cystatyna C jest znacznie lepszym wskaźnikiem funkcji nerek niż kreatynina, w szczególności w przypadkach niewielkiego spadku GFR [35, 36, 37]. Wydaje się, że cystatyna C jest swoistym pomostem pomiędzy nerkami a sercem.

Niezwykle istotną kwestią jest poznanie patogenetycznych mechanizmów innych niż dysfunkcja nerek, które są odpowiedzialne na zwiększoną syntezę cystatyny C i jej związków z układem sercowo-naczyniowym. Składnikiem tego mechanizmu wydaje się być stan zapalny (rycina 2). Wykazano bowiem, iż wysokim stężeniom cystatyny C towarzyszą wysokie stężenia CRP [38, 39]. Prozapalne cytokiny związane z indukcją aterogenezy stymulują syntezę lizosomalnych katepsyn, co jest związane ze wzrostem stężenia w surowicy ich inhibitora – cystatyny C [40]. Wydaje się więc, że cystatyna C może być pomocna w identyfikacji pacjentów obarczonych zwiększonym ryzykiem rozwoju zarówno przewlekłej choroby nerek, jak i chorób sercowo-naczyniowych. Pacjenci ci mogą odnieść istotne korzyści z bardziej „agresywnego” postępowania prewencyjnego.

Piśmiennictwo:

1. Kaperonis E.A., Lapis C.D., Aksis J.D. et al.: Inflammation and atherosclerosis. *Eur. J. Endovasc. Surg.* 2006, 31, 386–393.
2. Maseri A., Cianflone D.: Inflammation in acute coronary syndromes. *Eur. Heart J.* 2002, 4, B8–B13.
3. Harrison D., Griendling K.K., Landmesser U. et al.: Role of oxidative stress in atherosclerosis. *Am. J. Cardiol.* 2003, 91, 7A–11A.
4. Kutuk O., Basaga H.: Inflammation meets oxidation: NF- κ B as a mediator of initial lesion development in atherosclerosis. *Trends Mol. Med.* 2003, 9, 549–557.
5. Kunsch C., Medford R.M.: Oxidative stress as a regulator of gene expression in the vasculature. *Circ. Res.* 1999, 85, 753–766.
6. Chung J.H., Seo A.Y., Chung S.W. et al.: Molecular mechanism of PPAR in the regulation of age-related inflammation. *Ageing Res. Rev.* 2008, 7, 126–136.

5. Podsumowanie

Wydaje się, że rola medycyny laboratoryjnej w kardiologii klinicznej nie ogranicza się jedynie do biochemicznej diagnostyki i/lub potwierdzenia martwicy kardiomiocytów. Tu złotym standardem pozostają sercowe troponiny. W ostatnich latach rozszerzyły się znacznie możliwości diagnostyczne dzięki opracowaniu wysoko czułych testów troponinowych. Pojawiły się jednak ważne problemy interpretacyjne związane z możliwością precyzyjnego oznaczenia bardzo niewielkich, nawet nanogramowych (ng/l) stężeń troponin.

Istotnym elementem postępowania terapeutycznego jest ocena ryzyka pacjenta zgłaszającego się z objawami sugerującymi ostre zespoły wieńcowe. Omówione w niniejszym opracowaniu nowe markery (MPO, Lp-PLA2 i cystatyna C) nie mają znaczenia diagnostycznego, ale mogą się przyczynić do bardziej precyzyjnej oceny ryzyka zarówno krótko- jak i długookresowego. Niezbędne są jednak szeroko zakrojone badania, zgodne z zasadami medycyny opartej na dowodach naukowych, oceniające przydatność tych markerów tak w praktyce klinicznej, jak i w postępowaniu prewencyjnym. Jest to, jak się wydaje, największe wyzwanie dla medycyny laboratoryjnej u progu drugiej dekady XXI wieku.

7. Alpert J.S., Thygesen K., Bassand J.P. et al.: Myocardial infarction redefined – a consensus document of the Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2000, 36, 959–969.

8. Panteghini M., Pagani F., Leo K-T.J. et al.: Evaluation of imprecision for cardiac troponin assays at low-range concentration. *Clin. Chem.* 2004, 50, 327–332.

9. James S., Armstrong P., Calif R. et al.: Troponin T levels and risk of 30-day outcomes in patients with acute coronary syndrome: prospective verification in the GUSTO-IV trial. *Am. J. Med.* 2002, 115, 178–184.

10. Reichlin T., Hochholzer W., Bassetti S. et al.: Early diagnosis of myocardial infarction with sensitive cardiac troponin assays. *N. Engl. J. Med.* 2009, 361, 858–867.

11. Keller T., Zeller T., Peetz D. et al.: Sensitive troponin I assay in early diagnosis of acute myocardial infarction. *N. Engl. J. Med.* 2009, 361, 868–877.
12. Apple F.S., Simpson P.A., Murakami M.A.M.: Defining the serum 99th percentile in a normal reference population measured by a high-sensitivity cardiac troponin I assay. *Clin. Biochem.* 2010, 43, 1034–1036.
13. Schulz O., Reinicke M., Berghoefer G.H. et al.: High-sensitivity cardiac troponin I (hs-cTnI) values in patients with stable cardiovascular disease: An initial foray. *Cin. Chim. Acta* 2010, 411, 812–817.
14. Wu A.H.B., Lu Q.A., Todd J. et al.: Short- and long-term biological variation in cardiac troponin I measured with a high-sensitivity assay: Implication for clinical practice. *Cin. Chem.* 2009, 55, 52–58.
15. Pearson T.A., Mensah G.A., Alexander R.W. et al.: Markers of inflammation and cardiovascular disease application to clinical and public health practice. A statement for Healthcare professionals from Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation* 2003, 107, 499–511.
16. Podrez E.A., Abu-Soud H.M., Hazen S.L.: Myeloperoxidase-generated oxidants and atherosclerosis. *Free Rad. Biol. Med.* 2000, 28, 1717–1723.
17. Boudjelita K.Z., Moguilevsky N., Legssayer I. et al.: Oxidation of low density lipoproteins by myeloperoxidase at the surface of endothelial cells: an additional mechanism to subendothelial oxidation. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 2004, 325, 434–438.
18. Nicholls S.J., Zheng L., Hazen S.L.: Formation of dysfunctional high-density lipoprotein by myeloperoxidase. *Trends Cardiovasc. Med.* 2005, 15, 212–219.
19. Zheng R., Settle M., Brubaker G. et al.: Localization of nitration and chlorination sites on apolipoprotein A-1 catalyzed by myeloperoxidase in human atheroma associated oxidative impairment in ABCA1-dependent cholesterol efflux from macrophages. *J. Biol. Chem.* 2005, 280, 38–47.
20. Zhang R., Brennan M-L, Xiaomming F. et al.: Association between myeloperoxidase levels and risk of coronary artery disease. *JAMA* 2001, 286, 2136–2142.
21. Baldus S., Hoeschen C., Meinertz T. et al.: Myeloperoxidase serum levels predict risk patients with acute coronary syndromes. *Circulation* 2003, 108, 1440–1445.
22. Bremann M.I., Penn M.S., Van Leute F. et al.: Prognostic value of myeloperoxidase in patients with chest pain. *N. Eng. J. Med.* 2003, 349, 1595–1604.
23. Eggers K.M., Dellborg M., Johnston N. et al.: Myeloperoxidase is not useful for the early assessment of patients with chest pain. *Clin. Biochem.* 2010, 43, 240–245.
24. Shah K.B., Kop W.J., Christianson R.H. et al.: Lack of diagnostic and prognostic utility of circulating plasma myeloperoxidase concentrations in patients presenting with dyspnea. *Clin. Chem.* 2009, 55, 59–67.
25. Gazi I., Lourida E.S., Filippatos T.: Lipoprotein-associated phospholipase A2 activity is a marker of small, dense LDL particles in human plasma. *Clin. Chem.* 2005, 51, 2264–2273.
26. Lavi S., McConnel J.P., Rihal C.S. et al.: Local production of lipoprotein-associated phospholipase A2 and lysophosphatidylcholine in the coronary circulation: association with early coronary atherosclerosis and endothelial dysfunction in human. *Circulation* 2007, 115, 2715–2721.
27. Lerman A., McConnel J.P.: Lipoprotein-associated phospholipase A2: A risk marker or risk factor. *Am. J. Cardiol.* 2008, 101, 11F–22F.
28. Corson M.A., Jones P.H., Davidson M.H.: Review of the evidence for the clinical utility of lipoprotein-associated phospholipase A2 as a cardiovascular risk marker. *Am. J. Cardiol.* 2008, 101, 41F–50F.
29. Ronco C., Haapio M., House A.A. et al.: Cardiorenal syndrome. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2008, 52, 1527–1539.
30. Arimoto T., Takeishi Y., Nizeki T. et al.: Cystatin C, a novel measure of renal function, is an independent predictor of cardiac events in patients with heart failure. *J. Cardiac Failure* 2005, 11, 595–601.
31. Servais A., Giral P., Bernard M. et al.: Is serum cystatin C a reliable marker for metabolic syndrome? *Am. J. Med.* 2008, 121, 426–432.
32. Campbell C.Y., Clarke W., Park H. et al.: Usefulness of cystatin C and prognosis following admission for acute heart failure. *J. Cardiol.* 2009, 104, 389–392.
33. Taglieri N., Fernandez-Berges D.J., Koenig W. et al.: Plasma cystatin C for prediction of 1-year cardiac events in Mediterranean patients with non-ST elevation acute coronary syndrome. *Atherosclerosis* 2010, 209, 300–305.
34. Lee S-H., Park S-A., Ko S-H. et al.: Insulin resistance and inflammation may have an additional role in the link between cystatin C and cardiovascular disease in type 2 diabetes mellitus patients. *Metabolism J.* 2010, 59, 241–246.
35. Dhamidharka V.R., Kwon C., Stevens G.: Serum cystatin C is superior to serum creatinine as a marker of kidney function: a meta-analysis. *Am. J. Kidney Dis.* 2002, 40, 221–226.
36. Grubb A., Nyman U., Bjork J. et al.: Simple cystatin C-based prediction equation for glomerular filtration rate compared with the modification of diet in renal disease prediction equation for adults and the Schwartz and the Coihahan-Barratt prediction for children. *Clin. Chem.* 2005, 51, 1420–1431.
37. Grubb A., Bjork J., Linstrom V. et al.: A cystatin C-based formula without anthropometric variables estimates glomerular filtration rate better than creatinine clearance using the Cockcroft-Gault formula. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 2005, 65, 153–162.
38. Knight E.L., Verhave J.C., Spiegelman D. et al.: Factors influencing serum cystatin C levels other than renal function and the impact on renal function measurement. *Kidney Int.* 2004, 65, 1416–1421.
39. Shlipak M.G., Katz R., Cushman M. et al.: Cystatin C and inflammatory markers in the ambulatory elderly. *Am. J. Med.* 2005, 118, e25–e31.
40. Liu J., Sukhova G.K., Sun J.S. et al.: Lysosomal cysteine protease in atherosclerosis. *Atheroscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2004, 24, 1359–1366.

prof. dr hab. n.med. Dariusz Sitkiewicz
Katedra Biochemii i Chemii Klinicznej
Warszawski Uniwersytet Medyczny

NOWE WYZWANIA DLA STARYCH MARKERÓW

NEW CHALLENGE FOR OLD MARKERS

Dagna Bobilewicz

Streszczenie

Nowe możliwości metodyczne, a także postęp wiedzy sprawiły, że wiele uznanych markerów, używanych od lat w określonych jednostkach chorobowych, albo dodatkowo znalazło zastosowanie również w innych przypadkach, albo też zostało wycofanych z danych procedur i ich interpretacja uległa zupełnej zmianie. Problem został przedstawiony na przykładach CRP, mioglobiny, LDH, PAPP-A, S-100, B12.

Słowa kluczowe

Markery laboratoryjne, CRP, mioglobina, LDH, PAPP-A, S-100, B12.

Summary

New technologies combined with scientific progress created new possibilities for application of "old markers" that have already been used in laboratory practice. Some of them gained additional meaning, other were replaced in some procedures and their interpretation is more significant in others. As examples CRP, myoglobin, LDH, PAPP-A, S-100, B12 were presented.

Key words

Laboratory markers, CRP, myoglobin, LDH, PAPP-A, S-100, B12.

Wprawdzie historia badań laboratoryjnych czy medycyny laboratoryjnej nie jest tak długa, jak chirurgii czy chorób wewnętrznych, tym niemniej już na przełomie XIX i XX wieku poza wykorzystaniem metod organoleptycznych wykonywano właściwe oznaczenia, a wśród pierwszych oznaczanych parametrów była kreatynina (metodą opartą na reakcji Jaffe) oraz cholesterol. Lata 50. XX wieku to wprowadzenie transaminazy alaninowej i asparaginianowej, które stanowiły milowy krok na drodze rozpoznania zawału serca i chorób wątroby. Długą historię ma również CRP. Opisane w latach 30. XX wieku przez ponad 50 lat było oznaczane głównie dla potrzeb chorób reumatycznych ze względu na to, że stosowane wówczas metody (głównie immunodyszka radialna) umożliwiały uzyskanie wyniku dopiero po

48 godzinach, co oczywiście było nieakceptowane dla diagnozowania lub monitorowania przypadków ostrej fazy, kiedy to właśnie czas był czynnikiem krytycznym. Przełom stanowiło wprowadzenie metod immunoturbidymetrycznych (druga połowa lat 80.), umożliwiających uzyskanie wyników zarówno w surowicy, jak i we krwi pełnej w ciągu kilkunastu minut. Kolejnym etapem było zwiększenie czułości CRP (tzw. high sensitivity – wysokiej czułości CRP) poprzez wprowadzenie opłaszczania przeciwciał na cząstkach lateksu, co sprawiło, że potwierdzono możliwości wykorzystania jego niskich stężeń jako czynnika ryzyka rozwoju zmian miażdżycowych. Jak widać na przykładzie CRP, możliwości metodyczne są istotnym czynnikiem wpływającym na wartość diagnostyczną danego parametru. Ale czy tylko?

Zmiany w technologii, optymalizacja metod poprzez m.in. ich standaryzację przyczynia się do wyższej jakości wyników, natomiast sposób ich wykorzystania stanowi odrębne zagadnienie. Przykładem relatywnie niewielkich zmian metodycznych przy istotnych zmianach w interpretacji może być mioglobina [1]. Jest to niskocząsteczkowe białko wiążące tlen, obecne w cytoplazmie komórek mięśnia sercowego i mięśni szkieletowych. Przy uszkodzeniu komórek mięśniowych szybko przechodzi do krążenia, ulega filtracji kłębkowej, a następnie wchłonięciu w kanałkach nerkowych. Gwałtowny wzrost jej stężenia we krwi jest wynikiem rhabdomyolizy czyli uszkodzenia mięśni w różnym mechanizmie. Dotyczy to zarówno mięśnia sercowego, jak i mięśni szkieletowych. Parametr ten charakteryzuje się dużą czułością, ale bardzo małą swoistością, ponieważ stosowane metody oznaczeń nie różnicują miejsca pochodzenia mioglobiny. Uważana jest za najwcześniejszy marker ostrej niewydolności wieńcowej, jednak ze względu na niską swoistość diagnostyczną nie jest obecnie stosowana jako marker sercowy pierwszego rzutu, aczkolwiek jej kolejne oznaczenia w krótkich odstępach czasu mają wysoką ujemną wartość predykcyjną. Stężenie mioglobiny gwałtownie wzrasta, osiągając wartości nawet do kilkuset razy wyższe niż w spoczynku, w przypadkach uszkodzenia mięśni szkieletowych, które może być wynikiem ich zmiżdżenia (crush syndrom), niedokrwienia czy działania czynników toksycznych. W przypadku masywnego uszkodzenia mięśni obecna we krwi mioglobina jest przyczyną ostrego uszkodzenia nerek. Ostatnie badania wykazały, że stężenie mioglobiny może być czynnikiem predykcyjnym śmiertelności i konieczności wprowadzenia terapii nerkozastępczej na oddziałach pooperacyjnych.

Wysoka aktywność kinazy kreatynowej (CK) a także jej izoenzymu CK-MB w większości przypadków,

z którymi mamy do czynienia w codziennej pracy, jest kojarzona z ostrym epizodem wieńcowym [2]. W przypadkach uszkodzenia mięśni o różnej etiologii aktywność obu enzymów ulega znacznemu, a nawet silnemu podwyższeniu. Jednak w przeciwieństwie do epizodów wieńcowych zachowane są między nimi prawidłowe proporcje. Poniżej przedstawiony zestaw wyników ilustruje właśnie taki przypadek. Wyniki dotyczą pacjenta z hiperlipoproteinemią, u którego po statynach wystąpiły objawy uboczne w postaci dolegliwości ze strony mięśni. Należy również zwrócić uwagę na podwyższoną aktywność transaminazy asparaginianowej, spowodowaną uwalnianiem jej z mięśni.

Tak więc markery od lat kojarzone głównie z ostrym zespołem wieńcowym (CK, CK-MB, AST) czy uszkodzeniem komórki wątrobowej mogą być rozpatrywane w aspekcie zmian w mięśniach szkieletowych. Warto pamiętać, że zmiany te, na różnym tle, występują, podobnie jak w przedstawianym przypadku, u pacjentów ambulatoryjnych, budząc niepokój wśród pracowników laboratoriów.

Biochemia		wart. referencyjne
Białko całkowite	8,3 g/dl	↑ [6.2 - 8.2]
AST	168 U/l	↑ [5 - 40]
ALT	62 U/l	↑ [7 - 56]
CKMB masa	95,6 ng/ml	↑ [0 - 3.6]
CK	5751 U/l	↑ [24 - 204]
CKMB aktywność	98,0 U/l	↑ [0 - 8]
GGTP	79 U/l	↑ [8 - 78]
Cholesterol całkow.	327 mg/dl	↑ [120 - 200]
Triglicerydy	559 mg/dl	↑ [50 - 150]
Cholesterol HDL	40 mg/dl	[>40]
Wsk. Aterogenności	8	↑ [<5]

Ryc. Mężczyzna lat 50, niehospitalizowany, badania wykonane odpłatnie na własne żądanie.

Kolejnym markerem biologicznym stosowanym szeroko w rutynowej diagnostyce jest enzym gamma-glutamylotransferaza (GGTP), zlokalizowany na powierzchni błon komórkowych. Znana jest jego obecność w różnych narządach. Znalazł on powszechne zastosowanie w ocenie cholestazy zewnątrzwątrobowej, przerzutów nowotworowych do wątroby, a także jest uważany za wskaźnik nadmiernego spożywania alkoholu. Na podstawie wyników prowadzonych w ostatnich latach badań epidemiologicznych formułowane są również opinie o podwyższonych wartościach GGTP, występujących u osób z upośledzoną tolerancją glukozy, nadciśnieniem, szczególnie u nadużywających alkohol. Wykazano również związek GGTP z NAFLD (non alcoholic fatty liver disease – niealkoholowe stłuszczenie wątroby), przebiegającym z otyłością i insulinoopornością. Stwierdzono przy tym związek enzymu z umieralnością bez względu na przyczyny zgonu. [3, 4, 5]. U podstaw obserwowanych powiązań stoi najprawdopodobniej udział GGTP w mechanizmie stresu oksydacyjnego. Badania epidemiologiczne z uwzględnieniem GGTP są wyrazem ogólnych tendencji w nauce, mających na celu wykrycie różnych czynników ryzyka rozwoju chorób cywilizacyjnych.

Kolejnym przykładem może być hCRP (tłumaczone jako CRP o dużej czułości lub coraz częściej jako „sercowe” – ‘h’ ang. heart), którego rola jako czynnika ryzyka i wskaźnika prognostycznego w chorobach układu krążenia jest ogólnie znana [2]. Przyjęte wartości graniczne to 3–4 mg/l. Ostatnio opublikowane badania wykonane na populacji 5248 osób w okresie 7 lat (Scottish Health Survey) wykazały, że utrzymujące się stężenia hCRP powyżej 10 mg/l są silniejszym czynnikiem predykcyjnym chorób układu krążenia i umieralności bez względu na przyczynę, niż te ogólnie stosowane [6].

Do przykładów zmian znaczenia diagnostycznego do-

tychczas wykorzystywanych markerów należy również zaliczyć dehydrogenazę mleczanową (LDH), ciążowe białko osocze A (PAPP-A), białko S-100, fibronektynę czy witaminę B₁₂.

Do chwili powstania przed dziesięciu laty nowej definicji zawału, uwzględniającej oznaczanie nowych markerów sercowych, jak troponiny czy CKMB, LDH i jego izoenzym sercowy wraz z transaminazami wchodziły w skład profilu badań biochemicznych dla diagnostyki zawału. Obecnie, zgodnie z najnowszymi zaleceniami (2007) towarzystw kardiologicznych, zostały one zupełnie wyparte przez swoiste markery sercowe [2]. Liczba oznaczeń w skali ogólnościowej wybitnie spadła, natomiast dużą rolę przypisuje się temu enzymowi w hematologii, w monitorowaniu leczenia chłoniaków. PAPP-A jest metaloproteinazą cynkozależną, syntetyzowaną przez łożysko, ale także przez inne komórki, jak m.in. fibroblasty i komórki śródbłonna naczyń. Oznaczenie tego białka we krwi kobiet ciężarnych znalazło zastosowanie w przesiewowej diagnostyce prenatalnej zespołu Downa. Jego podwyższone stężenie wykazano również u osób z ostrym zespołem wieńcowym bez względu na płeć. Nie zawsze korelowało to z markerami uszkodzenia kardiomiocytów. Obecność białka stwierdzono też w blaszkach miażdżycowych i szereg badań dostarczyło dowodów, świadczących o wartości tego parametru w ocenie stabilności blaszki miażdżycowej i znaczeniu prognostycznym w niestabilnej chorobie wieńcowej i ostrych zespołach wieńcowych [7].

Fibronektyna, białko o krótkim czasie półtrwania, oznaczane we krwi znalazło zastosowanie w krótkotrwałym monitorowaniu odpowiedzi na leczenie żywieniowe, natomiast oznaczanie w śluzie szyjowym w okresie ciąży jest uznanym parametrem prognostycznym w kierunku zagrażającego porodu przedwczesnego.

Obniżenie zasobów ustrojowych witaminy B₁₂ i jej

stężenia we krwi jest znaną przyczyną niedokrwistości megaloblastycznej, a także zaburzeń neurologicznych. Jednocześnie wykazano istotny jej spadek w chorobie Alzheimera, a także w nawracających poronieniach samoistnych. Jest uznawana również jako niezależny czynnik ryzyka zakrzepicy żyłnej kończyn dolnych szczególnie z mutacją Leiden czynnika V.

Bardzo ciekawym białkiem, uwzględnionym jako marker nowotworowy czerniaka w Programie Zwalczania Chorób Nowotworowych, jest białko S-100. Jest ono produkowane przez komórki astrogleju w mózgu i uwalniane przez uszkodzoną barierę krew-mózg. Jest markerem zarówno uszkodzenia neuronów, jak i bariery krew-mózg. Zainteresowanie S-100 jako markerem uszkodzenia mózgu jest wynikiem zwiększenia liczby mikrourazów, a także diagnostycznych i terapeutycznych epizodów niedokrwienych. Nawet nie-

wielki wzrost stężenia w surowicy jest złym czynnikiem prognostycznym [8]. Wśród przyczyn uszkodzeń mózgu, w ocenie których wymienia się celowość oznaczeń S-100, uznaje się:

- ubytki pamięci i umieralność pacjentów po zatrzymaniu krążenia poza szpitalem,
- niedokrwienie mózgu po operacjach w krążeniu pozaustrojowym,
- niedokrwienie mózgu po operacjach neurochirurgicznych,
- niedokrwienie mózgu po operacjach na tętnicy szyjnej,
- zamartwicę noworodków.

Powyżej podano kilka przykładów ogólnie dostępnych badań laboratoryjnych, których rola na przestrzeni lat uległa zmianie nie tylko ze względów metodycznych, ale również w wyniku postępu wiedzy i wprowadzania nowych procedur diagnostycznych i terapeutycznych. Należy liczyć się z tym, że jest to proces ciągły.

Piśmiennictwo:

1. Miller C.C. i wsp.: Serum myoglobin and renal mortality following thoracic and thoraco-abdominal aortic repair: Does rhabdomyolysis play a role? *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* 2009, 37, 388.
2. Myers G.L. (ed.): Emerging biomarkers for primary prevention of cardiovascular disease and stroke. *The National Academy of Clinical Biochemistry AACC* 2009.
3. Górecka U.: Gamma-glutamyltransferaza – nowe perspektywy diagnostyczne. *Badanie i Diagnoza* 2009, 15,17.
4. Raszeja-Wyszomirska J. i wsp.: Niealkoholowa choroba tłuszczowa wątroby – nowe spojrzenie. *Pol. Merk. Lek.* 2008, XXIV, 144, 568.
5. Kazemi-Shirazi L. i wsp.: Gamma glutamyltransferase a long term survival: is it just a liver? *Clin. Chem.* 2007, 53, 940.
6. Hamer M. i wsp.: Association of very high elevated C-reactive protein concentration with cardiovascular events and all-cause mortality. *Clin. Chem.* 2010, 56, 136.
7. Okopień B. i wsp.: Wskaźniki procesu zapalnego w stabilnej i niestabilnej chorobie wieńcowej. *Pol. Merk. Lek.* 2006, XXI, 121, 69.
8. Biberthaler P. i wsp.: Serum S-100 B concentration provides additional information for the indication of computer tomography in patients after minor head injury. A prospective multicenter study. *Shock* 2006, 25, 446.

prof. dr hab. n.med. Dagna Bobilewicz

*Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej
Warszawski Uniwersytet Medyczny*

INTERPRETACJA WYNIKU BADANIA MORFOLOGII KRWI

INTERPRETATION OF RESULTS OF COMPLETE BLOOD COUNT

Wiesław Wiktor Jędrzejczak

Streszczenie

Badanie morfologii krwi należy do podstawowych badań laboratoryjnych. Umożliwia wykrycie wielu chorób krwi, które bezpośrednio zaburzają jego wynik, oraz wykrycie schorzeń różnych innych narządów, które wpływają na ten wynik pośrednio. Jednakże interpretacja nawet podstawowych zaburzeń ciągle stwarza problemy lekarzom innych specjalności niż hematologia. Niniejszy artykuł ma za zadanie je wyjaśnić i omówić ich interpretację na przykładach typowych nieprawidłowych wyników.

Słowa kluczowe

Białaczka, niedokrwistość, małopłytkowość.

Summary

Complete blood count belongs to essential laboratory tests. It allows for detection of many blood disorders that directly disturb its results as well as detection of diseases of many other organs that alter its result indirectly. However, the interpretation of even basic disturbances still creates problems for physicians of other specialities than hematology. The aim of current review is to solve these problems and to discuss the interpretation of these results using typical abnormal results as examples.

Key words

Leukemia, anemia, thrombocytopenia.

Badanie morfologii krwi jest podstawowym badaniem laboratoryjnym już od kilkudziesięciu lat, mimo to jego interpretacja ciągle sprawia lekarzom trudności. Z niepublikowanych badań autora wynika, że blisko połowa lekarzy specjalizujących się w dziedzinie chorób wewnętrznych nie potrafi dobrze zinterpretować typowego wyniku dla ostrej białaczki. To między innymi jest powodem napisania tego artykułu.

Badanie morfologii krwi jest obecnie wykonywane niemal wyłącznie za pomocą specjalnych automatów, które dają wynik w postaci wydruku w języku angielskim. Są to aparaty różnych generacji i zależnie od tego dają wynik obejmujący więcej lub mniej parametrów. Nie wszystkie parametry są jednakowo

ważne; najważniejsze informacje można uzyskać znając interpretację tylko kilku parametrów. Chodzi o krwinki białe (oznaczone symbolem WBC), a wśród nich neutrofile (oznaczone symbolem NE), limfocyty (oznaczone symbolem LY) i monocyty (oznaczone symbolem MO) lub MID-y (oznaczone symbolem MID), a także krwinki czerwone (oznaczone symbolem RBC), hemoglobinę (oznaczoną symbolem HGB) i płytki krwi (oznaczone symbolem PLT). Dla porządku w tabeli 1 zostały uwzględnione wszystkie podawane na wydruku terminy wraz z tłumaczeniem na polski.

Oto dodatkowe objaśnienia.

– **MID-y** są to komórki, których automat nie może zaliczyć ani do neutrofili, ani do limfocytów. Miesz-

czą się tu monocyty oraz eozynofile i bazofile, a także komórki nieprawidłowe, w tym komórki białaczkowe zwane blastami. Są one wykazywane tylko przez aparaty o prostszej budowie i starszych generacji.

– **HCT**, czyli hematokryt. Jest to ta część objętości krwi, którą stanowią krwinki czerwone.

– **MCV** to średnia objętość krwinki czerwonej, która jest wynikiem podzielenia hematokrytu przez liczbę krwinek czerwonych. Ten parametr określa, czy krwinki są w swojej średniej normalnej wielkości, czy też są zmniejszone (tzw. mikrocyty) lub zwiększone (tzw. makrocyty).

– **MCH**, czyli średnia zawartość hemoglobiny w krwince czerwonej jest obliczona przez podzielenie stężenia hemoglobiny przez liczbę krwinek czerwonych;

– **MCHC** to średnie stężenie hemoglobiny w krwince czerwonej. Jest obliczone przez podzielenie stężenia hemoglobiny przez hematokryt. Parametry MCH i MCHC określają, czy krwinki czerwone mają nor-

malną ilość hemoglobiny (są normobarwliwe), czy zbyt małą ilość hemoglobiny (są niedobarwliwe) lub zbyt dużą ilość hemoglobiny (są nadbarwliwe).

– **RDW** to parametr elektroniczny wskazujący, czy krwinki czerwone cechują się dużą różnorodnością wielkości i kształtu czy nie. Ten parametr ma niewielką przydatność dla niehematologów.

– **MPV**, czyli średnia objętość płytki to parametr o niewielkiej przydatności dla niehematologów.

Podobnie niewielką przydatność dla niehematologów mają umieszczane często na wynikach wykresy. Z reguły należy je po prostu pominąć. Natomiast sam wydruk na ogół zawiera nie tylko wynik, lecz ma także podane wartości prawidłowe (normal values, reference range) oraz interpretację, tj. czy jest nieprawidłowo wysoki (H: high) lub nieprawidłowo niski (L: low). Często ta rubryka ma nazwę „flag” (chorągiewka alarmowa).

Wartości prawidłowe podstawowych parametrów krwi obwodowej są podane w tabeli 2.

Tutaj trzeba zwrócić uwagę, że wartości liczbowe

Tabela 1. Parametry badania morfologii krwi.

Skrótowa nazwa parametru	Pełna angielska nazwa parametru	Pełna polska nazwa parametru
WBC	white blood cells	krwinki białe, leukocyty
LY, LYM (lub LYMP)	lymphocytes	limfocyty
MID (lub MXD)	MID cells	MID-y „midy”
GRAN (lub NEUT)	granulocytes, neutrophils	granulocyty obojętnochłonne, neutrofile
RBC	red blood cells	krwinki czerwone
HGB	hemoglobin	hemoglobina
HCT (też PCV)	hematocrite (packed cell volume)	hematokryt
MCV	mean corpuscular volume	średnia objętość krwinki czerwonej
MCH	mean content of hemoglobin	średnia zawartość hemoglobiny
MCHC	mean cell hemoglobin concentration	średnie stężenie hemoglobiny w krwince czerwonej
RDW	relative dimension width	względna szerokość wymiaru
PLT	platelets	płytki krwi
MPV	mean platelet volume	średnia objętość płytki

Tabela 2. Wartości prawidłowe podstawowych parametrów morfologii krwi i jednostki, w których są wyrażone.

Parametr	Zakres wartości prawidłowych	Jednostki	Wyjaśnienie jednostek
WBC	4,1–10,9	K/ μ L, G/L, G/l*	tyśiąc/mikrolitr lub milimetr sześcienny, miliard/litr
LYM (lub LYMP)	0,6–4,1	K/ μ L, G/L	jw.
MID (lub MXD)	0,0–1,8	K/ μ L, G/L	jw.
GRAN (lub NEUT)	2,0–7,8	K/ μ L, G/L	jw.
RBC	4,5–6,5 (mężczyźni); 3,9–5,6 (kobiety)	M/ μ L, T/L*	milion/mikrolitr lub milimetr sześcienny, bilion/litr
HGB	13,5–17,5 (mężczyźni); 11,5–15,5 (kobiety)	g%, g/dl %	gramy na 100 mililitrów lub na decylitr
HCT	37,0–51,0 (0,37–0,51)	(część jednostki)	
MCV	80–97	fL	femtolitr
MCH	26–32	Pg	pikogram
MCHC	31–36		
RDW	11,5–14,5	%	
PLT	140–440	K/ μ , G/L	jw.
MPV	5–10	fL	femtolitr

*G/L, G/l = 10^9 /litr; T/L = 10^{12} /l.

neutrofilii i limfocytów są podane w liczbach bezwzględnych. Zdarza się jeszcze nieprawidłowe podawanie tych wartości w odsetku (procencie) całkowitej liczby krwinek białych. W takim przypadku należy ten odsetek przeliczyć na liczbę bezwzględną i dopiero wtedy interpretować. Posługiwanie się procentami jest jednym z najczęstszych powodów popełniania błędów interpretacyjnych.

Dodatkowo badany parametrem jest liczba retikulocytów, czyli młodych krwinek czerwonych, zwykle podawana jako promil całkowitej liczby krwinek czerwonych. Normalnie retikulocyty stanowią 3–10 promili krwinek czerwonych, ale ich liczbę można też podać jako liczbę bezwzględną i ta wartość powinna być wyższa niż 60 G/L

Ogólne zasady oceny wyniku badania morfologii krwi

Ocena wyniku badania morfologii krwi zależy od tego, kogo to badanie dotyczy. Prezentowane opracowanie dotyczy osób, u których zaburzenia stwierdzone są po raz pierwszy, i przedstawione w nim zasady stanowią swoisty dekalog. Trzeba jednak pamiętać, że jest wśród nas coraz więcej osób przewlekle chorych, u których albo choroba, albo stosowane leki powodują charakterystyczne zaburzenia. W tych przypadkach bardzo istotna jest też wiedza o tym, na jaką podstawową chorobę od dawna cierpi dana osoba oraz jakie leki przyjmuje z tego powodu. Poniższy dekalog również ma tu zastosowanie, ale wtedy chorego ze stwierdzonymi zaburzeniami

należy skierować do ośrodka, w którym jest prowadzony, a do innego lekarza tylko wtedy, kiedy z różnych powodów nie jest to możliwe.

Dekalog oceny wyniku badania morfologii krwi u osoby wcześniej zdrowej

Po pierwsze należy upewnić się, czy badanie dotyczy określonej osoby, tj. czy to jej imię, nazwisko i PESEL widnieją na wydruku wyniku badania. Dość często dochodzi do błędów w nazwisku, co wynika stąd, że jest ono przepisywane z odręcznie wypełnionego druku skierowania i może być niedostatecznie czytelne.

Po drugie należy spojrzeć w pierwszej kolejności na liczbę krwinek białych WBC, czerwonych RBC (lub hemoglobinę HGB czy hematokryt HCT) i płytek PLT – zwykle obok podana jest norma – i sprawdzić, czy nie ma nieprawidłowości. Nieprawidłowości są zwykle zaznaczone literkami H (high: zwiększone) lub L (low: zmniejszone) lub strzałkami skierowanymi odpowiednio w górę albo w dół.

Po trzecie spojrzeć na bezwzględne liczby poszczególnych rodzajów krwinek białych: neutrofilów NE#, limfocytów LY#, monocytów MO# lub tzw. Mid-ów (MID#). Tutaj również na ogół obok jest podana norma, co pozwala sprawdzić, czy nie ma nieprawidłowości, a zwłaszcza czy nie ma za dużo MON# lub MID-ów, a za mało neutrofilów (NE#).

Po czwarte trzeba sprawdzić, czy nie ma jakichkolwiek innych parametrów, oznaczonych literą H (high) lub L (low).

Po piąte nie zwracać uwagi na procenty krwinek białych tj. np. NE%, LY%, MON%, MID%, lecz skupić się na wartościach podanych w liczbach bezwzględnych. Jeśli te parametry komórek są podane tylko w procentach, to wówczas wychodząc od bezwzględnej liczby krwinek białych WBC należy obliczyć wartość liczbową neutrofilów. Na przykład WBC

wynosi 5,0, neutrofile NE% wynosi 20%, czyli w liczbach bezwzględnych NE# jest równe 1,0 (taki wynik jest nieprawidłowy i wymaga dalszego wyjaśnienia). Podobnie postąpić z MON lub MID i LY itd.

Po szóste nie ma potrzeby zwracać uwagi na wykresy. Zwykle są to wykresy wielkości komórek. Są to parametry, które mogą być przydatne hematologowi, i w normalnej interpretacji są zbędne.

Po siódme, jeżeli wartość jakiegokolwiek parametru znacznie przekracza normę w górę lub w dół, należy możliwie szybko wykonać dalsze badania w celu wyjaśnienia tego problemu i pacjenta skierować do hematologa albo w przypadku przewlekle chorych do lekarza/ośrodka prowadzącego.

Po ósme, jeżeli zaburzenia są umiarkowane, to możliwie szybko powtórzyć badanie, aby upewnić się, że nie jest to wynik przypadkowy. Zawsze warto pamiętać, że zdarzają się zarówno błędy ludzkie, jak i błędy (lub zła kalibracja) aparatu.

Po dziewiąte, jeżeli powtórzone badanie potwierdzi obecność zaburzenia, należy możliwie szybko kontynuować diagnostykę.

Po dziesiąte, jeżeli to możliwe, warto uzyskać od pacjenta jego wcześniejsze wyniki badania morfologii krwi, aby mieć możliwość porównania.

Co mogą oznaczać stwierdzone nieprawidłowości wyniku badania morfologii krwi?

Każdy parametr może być zaburzony w dwojaki sposób: może mieć wartości wyższe lub niższe od prawidłowych. Im bardziej odbiega od normy, tym bardziej poważne schorzenie sygnalizuje. Niewielkie zaburzenia z jednej strony mogą sygnalizować wczesne stadia choroby, ale z drugiej strony często są przypadkowe. Przykładowo nieznaczne zwiększenie liczby krwinek czerwonych może wynikać z tego, że

od kilku godzin badany nie pił wody, a tym samym jest odwodniony i ta sama liczba krwinek czerwonych znajduje się w mniejszej ilości wody, a mówiąc ściślej – w mniejszej ilości płynnej części krwi, która nazywana jest osoczem.

Wbrew rozpowszechnionym poglądom wcześniejsze spożycie posiłku ma niewielki wpływ na wynik badania morfologii krwi i w żaden istotny sposób nie wpłynie na poważne nieprawidłowości, takie jak w podanych poniżej typowych przykładach.

Większe zaburzenia niemal zawsze sygnalizują chorobę, ale nie musi to być choroba krwi.

Bardzo wiele chorób innych narządów wtórnie powoduje zaburzenia obrazu krwi i zwykle dopiero dalsza diagnostyka pozwala określić, czy chodzi o zaburzenie wywołane inną chorobą, czy też wynik sygnalizuje prawdziwą chorobę krwi.

Przy interpretacji wyniku, w którym pojawia się niewielka nieprawidłowość, bardzo pomocne jest **poprzednie badanie** (jeśli osoba badana nim dysponuje). Istotne jest, aby sprawdzić, czy ta nieprawidłowość występowała wcześniej, czy też pojawiła się po raz pierwszy. W razie stwierdzenia większych nieprawidłowości jest też celowe powtórzenie badania, gdyż zawsze istnieje możliwość ludzkiej pomyłki (np. zamiana próbek krwi w laboratorium) oraz możliwość awarii urządzenia lub jego złej kalibracji.

Istotne jest też zwrócenie uwagi, czy zaburzenia dotyczą jednego czy większej liczby parametrów. Niestety jest tak, że **im więcej parametrów jest zaburzonych, tym gorzej**. Poniżej omówię podstawowe zasady interpretacji zaburzeń najważniejszych parametrów.

Parametry krwinek białych

WBC. Ten parametr jedynie sygnalizuje zaburzenia, których interpretacja wymaga oceny zaburzeń innych powiązanych z nim parametrów, tj. NE, LY,

MON lub MID. Jeżeli jego wartości są zwiększone, to mówimy o leukocytozie, a jeśli zmniejszone to o leukopenii. Nieznaczna leukocytoza lub leukopenia najczęściej jest wynikiem przypadkowym i nie sygnalizuje żadnej choroby. Znaczna leukocytoza (powyżej 50 G/l) lub leukopenia (poniżej 2,0 G/l) niemal zawsze sygnalizuje poważną chorobę i wymaga bardzo pilnej konsultacji. Wartości pośrednie wymagają również konsultacji, ale w mniej pilnym trybie (np. dopiero następnego dnia).

NE – bezwzględna liczba neutrofilii, czyli granulocytów obojętnochłonnych. Zmniejszenie

wartości tego parametru skutkuje zwiększoną podatnością na zakażenia bakteryjne i grzybicze – tym większą, im bardziej obniżona jest ta wartość. Umiarkowane zmniejszenie (poniżej 2 G/l, ale powyżej 1 G/l) nie zawsze oznacza chorobę. Bardziej nasilone zmniejszenie wymaga pilnej konsultacji lekarskiej, a wartości poniżej 0,5 G/l – natychmiastowego skierowania do szpitala najlepiej pod opiekę hematologa. Umiarkowane zwiększenie wartości tego parametru (poniżej 15 G/l) najczęściej sugeruje obecność zakażenia, ale jeśli towarzyszy mu zwiększenie wartości parametru MON/MID, to może w grę wchodzić przewlekła białaczka szpikowa i to również wymaga szybkiej konsultacji lekarskiej. Bardziej nasilone zwiększenie wymaga pilnej konsultacji lekarskiej, w tym konsultacji hematologa.

LY – bezwzględna liczba limfocytów. Zmniejszenie jest rzadko stwierdzane u osób dorosłych, ale jeśli jest poniżej 1 G/l, może sugerować rozwój AIDS albo chłoniaka ziarnicznego. Wymaga to pilnej konsultacji lekarskiej i specjalistycznych badań. Izolowane (bez zaburzenia żadnych innych parametrów) zwiększenie liczby limfocytów powyżej 5 G/l może sugerować przewlekłą białaczkę limfocytową lub rzadziej – obecność innego chłoniaka. Natomiast kiedy towarzyszą inne zaburzenia, może też wska-

zywać na tę chorobę, ale w bardziej zaawansowanym stadium. Może jednak również wskazywać na obecność ostrej białaczki. Taki wynik wymaga pilnej konsultacji hematologicznej.

MON – bezwzględna liczba monocytów. Zmniejszenie jest rzadko stwierdzane i nie ma większego znaczenia, natomiast zwiększenie zarówno izolowane, jak i skojarzone z innymi zaburzeniami może sugerować różne rodzaje białaczek. Konieczne jest niezwłoczne skonsultowanie się z hematologiem.

MID – bezwzględna liczba „MID-ów”. Zaburzenia mają podobne znaczenie, jak zaburzenia liczby monocytów. **Zwiększenie liczby zarówno MID-ów, jak i monocytów jest potencjalnie najbardziej niebezpiecznym objawem stwierdzanym w badaniu morfologii krwi.**

EO – bezwzględna liczba eozynofili. Zmniejszenie jest bez istotnego znaczenia praktycznego, a zwiększenie może być objawem alergii, choroby pasożytniczej i jeżeli jest powyżej 1,5 G/l, może oznaczać specjalny rodzaj przewlekłej białaczki. Wymaga konsultacji lekarza, a przy poważniejszym zwiększeniu – konsultacji hematologa.

BASO – bezwzględna liczba bazofilów. Zmniejszenie bez istotnego znaczenia klinicznego, a zwiększenie (występujące bardzo rzadko) może wiązać się z obecnością przewlekłej białaczki. Niezbędna jest konsultacja hematologiczna.

Parametry krwinek czerwonych

Hb (hemoglobina), Ht (hematokryt) i RBC (liczba krwinek czerwonych) mają podobne znaczenie informacyjne i są zaburzone równolegle, choć często z różnym natężeniem. Zmniejszenie wartości oznacza niedokrwistość, czyli anemię, a zwiększenie wartości – nadkrwistość czyli policytemię. Zarówno jeden, jak i drugi objaw wymaga konsultacji lekar-

skiej, a jeżeli natężenie nadmiaru lub niedoboru jest duże, to konsultacji hematologa. Jest to tym bardziej konieczne wtedy, kiedy zaburzenie tych parametrów jest skojarzone z obecnością zaburzeń parametrów białokrwinkowych i/lub płytkowych.

MCV– średnia objętość krwinki czerwonej jest podstawowym parametrem pomagającym określić rodzaj niedokrwistości. Na jego podstawie można wskazać, czy w danym przypadku chodzi o niedokrwistość normocytową, w której krwinki czerwone mają prawidłową wielkość, mikrocytową, w której krwinki czerwone są mniejsze niż normalnie czy makrocytową, w której krwinki czerwone są większe niż normalnie. Wszystkie rodzaje niedokrwistości wymagają konsultacji hematologa.

Najczęstszą przyczyną niedokrwistości mikrocytowej jest niedobór żelaza. Może on być spowodowany jego deficytem w pożywieniu (głównie u dzieci i osób odżywiających się wyłącznie pokarmami roślinnymi), fizjologiczną utratą żelaza z krwawieniem miesięcznym (u młodych kobiet) albo poważnymi zaburzeniami wchłaniania (poważne choroby przewodu pokarmowego) lub krwawieniem z przewodu pokarmowego. Niedokrwistość mikrocytowa u osoby starszej zawsze sygnalizuje poważną chorobę i wymaga szybkiej diagnostyki odnośnie do przyczyny.

Najczęstszą przyczyną niedokrwistości makrocytowej jest niedobór witaminy B₁₂ lub kwasu foliowego. Może on być spowodowany deficytem tych substancji w pożywieniu (zwłaszcza u wegetarian) albo zaburzeniami wchłaniania w przewodzie pokarmowym. Również niedokrwistość normocytowa może sugerować obecność znacznie poważniejszej choroby niż niedokrwistość jako taka. Może być pierwszym objawem choroby nowotworowej, choroby z autoagresji czy choroby nerek. Wszystkie te niedokrwistości wymagają konsultacji co najmniej doświadczonego internisty, a jeszcze lepiej hematologa.

MCH i MCHC dotyczą zawartości i stężenia hemoglobiny w krwi. Podobnie jak MCV te parametry pozwalają określić niedokrwistość jako taką, ale z rozróżnieniem na niedokrwistość normobarwliwą (jeśli zawartość hemoglobiny jest prawidłowa), niedokrwistość niedobarwliwą (gdy zawartość hemoglobiny zmniejszona) i niedokrwistość nadbarwliwą (przy zwiększonej zawartości hemoglobiny). Istotne jest, że najczęstsza niedokrwistość, czyli niedokrwistość z niedoboru żelaza jest zarówno mikrocytowa, jak i niedobarwliwa.

Retics – retykuloocyty. Są to młode krwinki czerwone, które opuściły szpik w ciągu ostatnich kilkunastu godzin. Ich liczba jest wskaźnikiem wytwarzania krwinek czerwonych. Zmniejszenie sugeruje, że niedokrwistość jest spowodowana zmniejszeniem wytwarzania krwinek czerwonych, a zwiększenie w niedokrwistości sugeruje, że zmniejszenie liczby krwinek czerwonych we krwi obwodowej jest spowodowane albo ich niszczeniem albo znaczną utratą w wyniku krwotoku.

Parametry krwinek płytkowych

PLT – bezwzględna liczba płytek. Zmniejszenie. W tym parametrze jest bardzo duża różnica pomiędzy dolną granicą normy (140 G/l) a wartościami stwarzającymi niebezpieczeństwo dla zdrowia lub życia (poniżej 50 G/l, przy czym istotne znaczenie ma wynik poniżej 20 G/l). Przewlekłe występowanie zmniejszonych wartości zawsze wymaga konsultacji hematologa (nawet jeśli obniżenie jest umiarkowane), gdyż może sygnalizować poważniejszą przyczynę takiej sytuacji. Tym bardziej jest to konieczne w razie wystąpienia wartości określonych powyżej jako stwarzające zagrożenie. Istotne jest zalecenie choremu, aby od tej chwili powstrzymał się od przyjmowania aspiryny lub zawierających ją leków

złożonych. Aspiryna nieodwracalnie uszkadza płytki i wtedy na niedobór ich liczby nakłada się zaburzenie ich czynności.

Zwiększenie liczby płytek zwłaszcza powyżej 1000 G/l również wymaga szybkiej konsultacji hematologicznej. Jest ona także konieczna, kiedy zwiększenie jest umiarkowane (powyżej 600 G/l), ale wtedy sprawa jest mniej pilna, chyba że dotyczy osoby ze współistniejącymi chorobami, takimi jak zawał mięśnia sercowego czy udar.

MPV – średnia objętość płytki. Niespecjalista nie powinien interpretować tego parametru.

Wzory typowych nieprawidłowych wyników badania morfologii krwi

WBC 2,3 G/l; LY 1,4 G/l; MON 0,5 G/l; NE 0,4 G/l; RBC 5,45 T/l; MCV 89 fL; PLT 282 G/l

Taki wynik wskazuje na potencjalnie niebezpieczne dla życia zmniejszenie liczby neutrofilii. Może oznaczać wrodzoną neutropenię (bardzo rzadko i głównie u dzieci i młodych dorosłych) albo tzw. agranulocytozę polekową. Może też wystąpić u chorych na nowotwory lub choroby z autoagresji leczonych cytostatykami. Wymaga natychmiastowego skierowania do hematologa.

WBC 45,6 G/l; LY 18,8 G/l; MON 26,1 G/l; NE 0,7 G/l; RBC 2,85 T/l; MCV 94,7 fL; PLT 25 G/l

To jest typowy wynik dla ostrej białaczki. Jedynie jeden parametr (MCV) ma tu prawidłową wartość. Na podejrzenie białaczki wskazuje zwiększona liczba MON i LY. Komórki ostrych białaczek cechują się różną wielkością i część z nich może być przez aparat liczona jako monocyty (MON), a część jako limfocyty (LY). W ostrej białaczce obecności nieprawidłowych komórek zwanych blastami towarzyszy pancytopenia prawidłowych komórek, czyli neutropenia, anemia i małopłytkowość. Na podstawie takiego badania nie można określić, czy mamy do czynienia z białaczką szpikową czy limfoblastyczną. Taki wynik jest wskazaniem do natychmiastowej hospitalizacji w klinice hematologicznej.

WBC 28,3 G/l; LY 23,7 G/l; MON 0,7 G/l; NE 3,9 G/l; RBC 4,63 T/l; MCV 86,0 fL; PLT 232 G/l

Taki wynik, w którym izolowaną nieprawidłowością jest zwiększona liczba limfocytów, wskazuje na najbardziej prawdopodobne rozpoznanie przewlekłej białaczki limfocytowej (granica jest liczba limfocytów powyżej 5 G/l). Taki chory powinien być skierowany do hematologa, ale prawdopodobnie przez lata będzie wymagał jedynie obserwacji.

WBC 28,3 G/l; LY 3,7 G/l; MON 7,7 G/l; NE 16,9 G/l; RBC 4,63 T/l; MCV 86 fL; PLT 232 G/l

Taki wynik dla odmiany sugeruje rozpoznanie przewlekłej białaczki szpikowej. Warto jednak zauważyć, że podobny wynik może obrazować tzw. odczyn białaczkowy, czyli sytuację, w której zwiększenie liczby neutrofilii (NE) i pojawienie się we krwi młodych komórek jest spowodowane np. reakcją na infekcję. Młode komórki są rozpoznawane błędnie przez aparat jako monocyty (MON). Tutaj za podejrzeniem raczej przewlekłej białaczki szpikowej przemawia właśnie ich liczba, która w odczynie białaczkowym nie powinna przekraczać 3–4 G/l. Chory z podejrzeniem przewlekłej białaczki szpikowej powinien być skierowany do hematologa.

WBC 5,3 G/l; LY 1,4 G/l; MON 0,5 G/l; NE 3,4 G/l; RBC 7,45 T/l; MCV 89 fL; PLT 382 G/l

Wynik, którego główną nieprawidłowością jest zwiększona liczba krwinek czerwonych, wskazuje na stan zwany czerwienicą. Może on być wtórny np. do choroby płuc, w której organizm będzie korygował zaburzenia oddychania zwiększeniem liczby krwinek czerwonych. Może też wskazywać na rzadką chorobę nowotworową krwi zwaną czerwienicą prawdziwą. Po wykluczeniu przyczyn płucnych konieczne jest kontynuowanie diagnostyki u hematologa.

WBC 5,3 G/l; LY 1,4 G/l; MON 0,5 G/l; NE 3,4 G/l; RBC 2,45 T/l; MCV 69 fL; PLT 280 G/l

Podstawową nieprawidłowością tego wyniku jest niedokrwistość mikrocytowa, co najczęściej wskazuje na niedokrwistość z niedoboru żelaza, ale może też wskazywać na tzw. niedokrwistość przewlekłych

stanów zapalnych, a u osób młodych także na rzadkie rodzaje niedokrwistości wrodzonych: talasemię lub sferocytozę. U młodej kobiety tracącej żelazo w wyniku krwawień miesięcznych taki wynik oznacza przede wszystkim konieczność uzupełnienia niedoboru żelaza. U starszych kobiet i u mężczyzn (którzy jak wiadomo nie tracą żelaza wraz z miesiączką) konieczna jest pilna diagnostyka możliwych przyczyn przewlekłego krwawienia najczęściej z przewodu pokarmowego.

WBC 6,0 G/l; LY 2,6 G/l; MON 0,6 G/l; NE 2,8 G/l; RBC 2,36 T/l; MCV 118 fL; PLT 92 G/l

W tym wyniku dominującym zaburzeniem jest niedokrwistość makrocytowa z towarzyszącym umiarkowanym zmniejszeniem liczby płytek. Sugeruje on niedokrwistość z niedoboru witaminy B₁₂, ale może też być spowodowany zastosowanym leczeniem lekami z grupy tzw. antymetabolitów. Chory, u którego takie zaburzenie nie jest polekowe, wymaga gastrokopii i potwierdzenia obecności zanikowego nieżyłu żołądka.

WBC 5,3 G/l; LY 1,4 G/l; MON 0,5 G/l; NE 3,4 G/l; RBC 2,45 T/l; MCV 89 fL; PLT 282 G/l; retikulocyty 5,3%

Taki wynik (niskie RBC, normalne MCV) sugeruje, że niedokrwistość normocytowa jest spowodowana niszczeniem krwinek czerwonych na obwodzie np. przez przeciwciała. Inną przyczyną takiego wyniku może być sytuacja w kilka dni po obfitym krwotoku, kiedy organizm usiłuje uzupełnić utracone krwinki czerwone. W pierwszym przypadku konieczne jest natychmiastowe skierowanie do hematologa, w drugim – rozwiązanie problemu, który spowodował krwotok.

WBC 5,3 G/l; LY 1,4 G/l; MON 0,5 G/l; NE 3,4 G/l; RBC 2,45 T/l; MCV 89 fL; PLT 282 G/l, retikulocyty 0,04%

Ten wynik różni się od poprzedniego jedynie tym, że prawie nie wykazuje retikulocytów. To oznacza zahamowanie wytwarzania krwinek czerwonych w szpiku. Taka niedokrwistość normocytowa może być spowodowana nacieczeniem szpiku przez nowotwór lub przez niedobór erytropoetyny przy nie-

wydolności nerek. Chory powinien być skierowany do hematologa, który ewentualnie zaleci konsultację onkologa lub nefrologa.

WBC 5,3 G/l; LY 1,4 G/l; MON 0,5 G/l; NE 3,4 G/l;
RBC 5,45 T/l; MCV 89 fL; PLT 12 G/l

Nieprawidłowością widoczną w tym wyniku jest bardzo mała liczba płytek. Wskazywać to może na chorobę o nazwie pierwotna małopłytkowość immunizacyjna (dawniej: samoistna plamica małopłytkowa), rzadziej na inne przyczyny. W każdym wypadku konieczna jest natychmiastowa konsultacja hematologiczna, gdyż jest to sytuacja grożąca poważnym, nawet śmiertelnym krwotokiem.

WBC 5,3 G/l; LY 1,4 G/l; MON 0,5 G/l; NE 3,4 G/l;
RBC 2,45 T/l; MCV 89 fL; PLT 32 G/l

Ten wynik ujawnia dwie nieprawidłowości: bardzo małą liczbę płytek oraz niedokrwistość. W takiej sytuacji należy zwrócić przede wszystkim uwagę, czy chory nie ma zaburzeń świadomości lub zaburzeń czynności nerek. Pomocne mogą też być wyniki badania aktywności dehydrogenazy mleczanowej, czyli LDH. Jeśli będą one bardzo wysokie, to zespół tych objawów może wskazywać na tzw. zespół Moschkovitza, czyli zakrzepową plamicę małopłytkową. Jest to potencjalnie odwracalny stan bezpośredniego zagrożenia życia i chory powinien być jak najszybciej przekazany do ośrodka hematologicznego.

WBC 5,3 G/l; LY 1,4 G/l; MON 0,5 G/l; NE 3,4 G/l;
RBC 4,45 T/l; MCV 89 fL; PLT 882 G/l

Taki wynik wykazuje tylko jedną nieprawidłowość; jest to zwiększona liczba płytek. Może ona być spowodowana reakcją na różne choroby, ale może też sugerować obecność rzadkiego rodzaju nowotwo-

rowego schorzenia krwi zwanego nadpłytkowością samoistną. Konieczna jest konsultacja hematologiczna, chociaż przy wartościach takich jak w przykładzie nie musi ona być wykonana w trybie nagłym – jak w przypadku małopłytkowości. Gdyby jednak była to wartość 1882 G/l, należy zgłosić się do hematologa natychmiast, gdyż nadmiar płytek wiąże się z nadmiernym krzepnięciem, a to może skutkować udarem mózgu lub zawałem serca.

WBC 0,6 G/l; LY 0,2 G/l; MON: 0,1 G/l; NE 0,3 G/l;
RBC 1,93 T/l; MCV 88 fL; PLT 16 G/l

Taki wynik stwierdza zaburzone (zmniejszone) wartości jednocześnie wszystkich parametrów; sytuację taką określamy mianem pancytopenii. Może być ona spowodowana wystąpieniem bardzo ciężkich chorób krwi, takich jak anemia aplastyczna (zwana też aplazją szpiku), ostra białaczka szpikowa (jej odmiana tzw. aleukemiczna, w której komórki białaczkowe nie są uwalniane ze szpiku do krwi), rzadki rodzaj przewlekłej białaczki zwany białaczką włochatokomórkową czy zespół mielodysplastyczny. Może też być skutkiem zastosowanego leczenia, np. chemioterapii z powodu nowotworu. W każdym przypadku konieczna jest natychmiastowa hospitalizacja w ośrodku specjalistycznym, najlepiej hematologicznym.

Podsumowując, badanie morfologii krwi daje lekarzowi istotne informacje, dotyczące zarówno chorób krwi, jak również stanu ogólnego pacjenta. Warunkiem wykorzystania tych danych jest prawidłowa interpretacja wyniku, a następnie dalsza szczegółowa diagnostyka stwierdzonych zaburzeń.

Piśmiennictwo u autora.

prof. dr hab. n.med. Wiesław Wiktor Jędrzejczak

*Katedra i Klinika Hematologii,
Onkologii i Chorób Wewnętrznych
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego*

BADANIA HEMATOLOGICZNE I IMMUNOHEMATOLOGICZNE WYKONYWANE NA POTRZEBY KRWIODAWSTWA I KRWIOLECZNICTWA

HAEMATOLOGICAL AND IMMUNOHAEMATOLOGICAL EXAMINATIONS
PERFORMED ON BLOOD DONORS AND ON BLOOD RECIPIENTS

Elżbieta Klaus

Streszczenie

Badania hematologiczne wykonywane u dawców krwi w centrach krwiodawstwa mają za zadanie zakwalifikowanie krwiodawcy do oddania krwi lub jej składników, a badania immunohematologiczne – zakwalifikowanie krwi i/lub składnika krwi do użytku klinicznego. Badania immunohematologiczne wykonywane u biorców krwi mają zapewnić przetoczenie zgodnej, bezpiecznej krwi i/lub jej składników.

Słowa kluczowe

Badania hematologiczne, dawcy krwi, biorcy krwi.

Summary

Haematological examinations performed on blood donors in blood donation centers are intended to qualify the donor to donate blood or blood components. Immunohaematological tests are intended to qualify blood and/or blood components for the clinical use.

Immunohaematological tests performed on blood recipients are to ensure compatible and safe blood and/or its components.

Key words

Haematological examinations, blood donors, blood recipients.

Badania hematologiczne wykonywane w regionalnych centrach krwiodawstwa i krwiolecznictwa są badaniami kwalifikującymi krwiodawców do oddania krwi i/lub jej składników. W zależności od metody pobierania krwi lub jej składników: konwencjonalnej lub automatycznej (trombafereza, leukaferaza, erytroafereza, plazmafereza), oprócz stężenia hemoglobiny oznaczana jest liczba krwinek płytkowych (przed zabiegiem trombaferezy), liczba krwinek białych (przed zabiegiem leukaferazy) i hematokryt (przed zabiegiem erytroaferezy). Ponadto u każdego krwiodawcy, który oddaje regularnie krew lub jej składniki, raz w roku wykonywane jest badanie kontrolne następujących

parametrów morfologicznych krwi obwodowej: stężenia hemoglobiny, wskaźnika hematokrytowego, liczby krwinek czerwonych, białych i płytkowych oraz rozkładu zróżnicowania krwinek białych.

Badania hematologiczne wykonywane są w próbkach krwi żyłnej pobranej na EDTA przy użyciu nowoczesnych analizatorów hematologicznych, ale także – szczególnie podczas pobierania krwi od dawców wielokrotnych – w pobranej krwi włośniczkowej przy użyciu hemoglobinometrów. Ważność badań hematologicznych wynosi 7 dni, a zakres wartości referencyjnych parametrów morfologicznych krwi obwodowej krwiodawców przedstawiono w tabeli 1 [4].

Tabela 1. Zakres wartości referencyjnych parametrów morfologicznych krwi obwodowej krwiodawców.

	Kobiety	Mężczyźni	Zabieg aferezy	
Hb	≥ 12,5 g/dl	≥ 13,5 g/dl	≥ 14,0 g/dl	erytroafereza
Ht	≥ 0,38	≥ 0,40	≥ 0,42	
PLT			≥ 150 x 10 ⁹ /l	trombafereza
WBC	4–10 x 10 ⁹ /l			
%WBC	granulocyty obojętnochłonne w tym: z jądrem podzielonym: 55–70 i z jądrem pałeczkowatym: 0–7, kwasochłonne: 1–5, zasadochłonne: 0–2, limfocyty: 20–40, monocyty: 4–8			

Badania hematologiczne na potrzeby krwiolecznictwa u pacjentów wykonywane są w pracowniach hematologicznych laboratoriów szpitalnych. Obniżenie poniżej wartości referencyjnych liczby krążących erytrocytów we krwi obwodowej, zmniejszenie stężenia hemoglobiny i wartości hematokrytu świadczy o niedokrwistości, a tym samym o upośledzeniu zdolności krwi do transportu tlenu. Stopień nasilenia niedokrwistości określa się na podstawie stężenia hemoglobiny i według klasyfikacji Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) oraz National Cancer Institute (NCI) (tabela 2) [2].

Niedokrwistość rozwija się w wyniku zwiększonej utraty liczby krwinek czerwonych na skutek krwawień, zmniejszonego lub nieprawidłowego wytwarzania

krwinek czerwonych w szpiku kostnym, zwiększonego niszczenia i/lub zwiększonego fizjologicznego zapotrzebowania na krwinki czerwone i żelazo [3]. Stwierdzenie niedokrwistości podstawowymi badaniami wymaga wdrożenia specjalistycznego postępowania diagnostycznego i terapeutycznego. W przypadkach, gdy fizjologiczne mechanizmy kompensacyjne zostały upośledzone lub znajdują się na granicy wyczerpania, zostaje podjęta decyzja o leczeniu niedokrwistości przetoczeniami krwi w celu usprawnienia utlenowania tkanek. Identyfikacja istotnych klinicznie układów grupowych krwi dawcy i biorcy oraz dobranie bezpiecznego składnika krwi do przetoczenia jest zadaniem dla pracowni wykonującej badania immunohematolo-

Tabela 2. Stopień nasilenia niedokrwistości [2].

	Stężenie Hb w skali:	
	WHO	NCI
Wartości prawidłowe	≥ 11,0 g/dl	w granicach normy
Niedokrwistość łagodna	9,5–10,9 g/dl	10,0 g/dl – dolna granica normy
Niedokrwistość umiarkowana	8,0–9,4 g/dl	8,0–10,0 g/dl
Niedokrwistość ciężka	6,5–7,9 g/dl	6,5–7,9 g/dl
Niedokrwistość zagrażająca życiu	< 6,5 g/dl	< 6,5 g/dl

giczne na potrzeby krwiolecznictwa, a więc pracowni immunologii transfuzjologicznej.

W celu przygotowania krwi do przetoczenia należy posiadać wiarygodny, udokumentowany – zgodnie z obowiązującymi przepisami – wynik grupy krwi. Wiarygodny wynik grupy krwi musi zawierać wszystkie dane określone w punkcie 8.2 w Załączniku nr 5 (Standardy jakości w zakresie czynności laboratoryjnych immunologii transfuzjologicznej, oceny ich jakości i wartości diagnostycznej oraz laboratoryjnej interpretacji i autoryzacji wyniku badań) do Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 21.01.2009 r. (zmieniającego rozporządzenie w sprawie standardów jakości dla medycznych laboratoriów diagnostycznych i mikrobiologicznych).

W przypadku braku wiarygodnego wyniku należy wykonać oznaczenie grupy krwi, które obejmuje badania antygenów krwinek czerwonych układu ABO i antygeny RhD, przeciwciał naturalnych układu ABO, przeglądowe w kierunku obecności przeciwciał odpornościowych z zastosowaniem PTA-LISS (pośredni test antyglobulinowy z zastosowaniem roztworu o niskiej sile jonowej), a w przypadku wykrycia alloprzeciwciał – badania w kierunku zidentyfikowania ich swoistości. Roztwór o niskiej sile jonowej wprowadzono do testu antyglobulinowego w celu zwiększenia czułości i skrócenia czasu reakcji. Zawiera on mniej jonów Na^+ i Cl^- niż sol fizjologiczna, obniża liczbę wolnych jonów i zwiększa szybkość, z jaką tworzą się kompleksy przeciwciało-antygen.

Do oznaczania antygenów układów grupowych krwinek czerwonych stosuje się odczynniki monoklonalne o dużej awidności dwóch różnych klonów, przy czym odczynniki do oznaczania antygeny RhD nie powinny wykrywać wariantów antygeny RhD – głównie D^{VI} , oraz zestaw krwinek wzorcowych. Trudności, z którymi można się spotkać podczas oznaczania grupy krwi, to przede wszystkim: 1) osłabienie ekspresji antygenów układu ABO występujące zarówno w stanach fizjo-

logicznych (w ciąży, do drugiego roku życia dziecka, w podeszłym wieku), jak i w stanach patologicznych (białaczka, ziarnica złośliwa); 2) u noworodków – wytwarzanie przeciwciał naturalnych układu ABO od trzeciego miesiąca życia; 3) odmiany nabytych antygenów grupowych np. B-like; 4) słaba ekspresja antygeny D z układu Rh (RhD słaby, RhD częściowy tzw. kategoria, RhD_{DEL}); 5) wykrycie obecności alloprzeciwciał odpornościowych.

Zakres badań immunohematologicznych wykonywanych u krwiodawców obejmuje określenie następujących elementów: grupy krwi w układzie ABO (antygeny krwinek czerwonych i przeciwciała naturalne) i antygeny D z układu Rh, fenotypu Rh u wszystkich wielokrotnych dawców grupy 0, antygeny K z układu Kell u wszystkich wielokrotnych dawców, antygeny k u dawców K+dodatnich, klinicznie ważnych antygenów innych niż ABO, Rh i Kell układów grupowych oraz wykrywanie i identyfikację alloprzeciwciał odpornościowych u wszystkich dawców pierwszorazowych i u wszystkich dawców wielokrotnych, którzy byli leczeni krwią pomiędzy donacjami, i u kobiet z ciążą w wywiadzie [4]. Przy oznaczaniu grupy krwi u dawcy pierwszy raz oddającego krew należy wykonać badanie w dwóch próbkach krwi pobranych z dwóch różnych ułcut (podczas badań hematologicznych i podczas oddawania krwi) dwoma różnymi klonami odczynników diagnostycznych.

Do immunohematologicznych przedtransfuzyjnych badań należy wykonanie próby serologicznej zgodności biorcy i dawcy przed przetoczeniem składników krwi zawierających krwinki czerwone, tj. KPK (Krew Pełna Konserwowana), KKCz (Koncentrat Krwinek Czerwonych, w tym: KKCz bez koż.l.-pł. – KKCz bez kożuszka leukocytarno-płytkowego, KKCzRW – KKCz z roztworem wzbogacającym, KKCz/RW bez koż.l.-pł., KKCz-Af. – KKCz otrzymywany metodą automatycznej aferezy, PKKCz – przemywany KKCz, UKKCz – ubogo-

leukocytarny KKCz, MKKCz – mrożony KKCz, NKKCz – napromieniowany KKCz, autologiczny KKCz), KKP (Koncentrat Krwinek Płytkowych) i KG (Koncentrat Granulocytarny) – jeżeli zawierają $\geq 2 \times 10^{10}$ /preparat krwinek czerwonych.

Do prawidłowo wypełnionego skierowania na wykonanie próby zgodności należy dołączyć próbkę krwi pacjenta – 5–8 ml krwi pobranej od osoby dorosłej lub 2–5 ml – od dziecka. Próbkę krwi dawcy stanowi segment drenu odciętego od pojemnika z przygotowywanego do przetoczenia składnika krwi. Jeżeli brak informacji o uodpornieniu pacjenta i obecności alloprzeciwciał i/lub autoprzeciwciał typu ciepłego, to do wykonania próby serologicznej zgodności wybiera się składnik krwi od tzw. przypadkowego dawcy zgodnego w układzie AB0 i w antygenie RhD zgodnie z zasadami stanowiącymi serologiczną podstawę krwiolecznictwa (tabela 3) [4]. Natomiast pacjentom, którzy wytworzyli autoprzeciwciała typu ciepłego (istotnie klinicznie – powodujące przyspieszone niszczenie krwinek czerwonych) lub zimnego o poszerzonej amplitudzie cieplnej (reagują również w temperaturze 37°C) i/lub alloprzeciwciała wskutek immunizacji po poprzednich przetoczeniach składników czerwono-

wych lub podczas ciąży, należy dobierać krew zgodną w układzie AB0, w antygenach układu Rh: D, C, c, E, e i w antygenie K z układu Kell bez antygeny, do którego skierowane są wykryte przeciwciała.

Na próbę serologicznej zgodności biorcy i dawcy składają się następujące badania: 1) kontrola antygenów układu AB0 u biorcy i dawcy; 2) kontrola antygeny RhD u biorcy, a gdy biorca jest RhD-ujemny również kontrola antygeny RhD u dawcy; 3) wykonanie właściwej próby zgodności, tj. badania w kierunku obecności alloprzeciwciał do antygenów czerwono-krwinkowych dawcy z zastosowaniem PTA-LISS; 4) badanie przeglądowe w kierunku obecności alloprzeciwciał odpornościowych w surowicy biorcy przy użyciu PTA-LISS. Próbkę serologicznej zgodności określa się jako „zgodną”, jeżeli w próbce krwi pobranej od pacjenta nie wykrywa się alloprzeciwciał do antygenów krwinek dawcy i do antygenów krwinek wzorcowych.

Wykrywane alloprzeciwciała odpornościowe do krwinek czerwonych z punktu widzenia krwiolecznictwa dzieli się na istotne klinicznie – zagrażające wystąpieniem niepożądanego odczynu poprzetoczeniowego, i nieistotne klinicznie, a więc takie, które nie powodu-

Tabela 3. Zasady przetaczania koncentratu krwinek czerwonych.

Biorca	Dawca							
	0 RhD-	0 RhD+	A RhD-	A RhD+	B RhD-	B RhD+	AB RhD-	AB RhD+
0 RhD-	●							
0 RhD+	●	●						
A RhD-	●		●					
A RhD+	●	●	●	●				
B RhD-	●				●			
B RhD+	●	●			●	●		
AB RhD-	●		●		●		●	
AB RhD+	●	●	●	●	●	●	●	●

ją przyspieszonego niszczenia przetoczonych krwinek czerwonych. Trudności w identyfikacji przeciwciał mogą być spowodowane występowaniem alloprzeciwciał wieloswoistych, skierowanych do kilku antygenów krwinek czerwonych z różnych układów grupowych, oraz gdy są to alloprzeciwciała skierowane do antygeny powszechnego występującego z wysoką częstością (tj. powyżej 99%) w populacji. Cechą charakterystyczną dla alloprzeciwciał skierowanych do antygeny powszechnego jest uzyskiwanie dodatnich reakcji z zestawem krwinek wzorcowych i z jednoimiennymi krwinkami przypadkowo dobranych dawców oraz zawsze ujemnych reakcji z krwinkami autologicznymi.

Stwierdzenie obecności alloprzeciwciał w surowicy pacjenta nakłada obowiązek identyfikacji swoistości wykrytych przeciwciał i dobranie składnika krwi bez antygeny, do którego są one skierowane – zgodnie z zasadami stanowiącymi serologiczną podstawę krwiolecznictwa. Jeżeli stwierdza się obecność alloprzeciwciał istotnych klinicznie skierowanych do antygeny powszechnego, to należy zawsze dobierać do przetoczenia krew antygenowo ujemną. W przypadku obecności alloprzeciwciał nieistotnie znaczących klinicznie i przy braku krwi zgodnej do przetoczenia należy dokonać oceny przeciwciał w jednym z czynnościowych testów komórkowych w reakcji z krwinkami niezgodnymi antygenowo: w ADCC (teście badającym cytotoksyczność zależną od przeciwciał), w CLT (teście chemiluminescencji) lub w MMA (teście erytrofagocytozy). Jeśli wystąpią trudności w określeniu antygenów układu AB0 lub obecności alloprzeciwciał i braku krwi jednoimiennej, tj. zgodnej w układzie AB0 i w RhD w stanach zagrożenia życia – dopuszczalne jest dobieranie KKCz grupy 0 biorcom innej grupy w układzie AB0 oraz dobieranie KKCz grupy A lub B biorcom grupy AB (tabela 3).

W nagłych przypadkach dobierania KKCz obowiązuje wykonanie wszystkich badań zaliczanych do próby sero-

logicznej zgodności, ale dopuszczalne jest wydanie krwi do przetoczenia po wykonaniu badań kontrolnych antygenów układu AB0 i antygeny RhD u biorcy i dawcy. Wykonanie badań w kierunku obecności alloprzeciwciał do antygenów krwinek czerwonych dawcy i krwinek wzorcowych powinno nastąpić w jak najkrótszym czasie po wydaniu składnika krwi do przetoczenia.

Badania wykonywane przed przetoczeniem krwi noworodkom do czwartego miesiąca życia obejmują badania wykonywane u matki – gdy krew matki jest dostępna (antygeny układu AB0 i RhD oraz w kierunku obecności alloprzeciwciał odpornościowych), i u dziecka (antygeny AB0 i RhD oraz BTA – bezpośredni test antyglobulinowy). Gdy krew matki jest niedostępna, należy wykonać w surowicy dziecka badanie antygenów z układu AB0 i antygeny RhD, BTA i alloprzeciwciał przy zastosowaniu zestawu wzorcowych krwinek czerwonych. Brak obecności alloprzeciwciał w surowicy matki i ujemny BTA w surowicy dziecka dopuszcza przetoczenie KKCz zgodnego w układach AB0 i w antygenie D z układu Rh – bez wykonywania próby serologicznej zgodności. Jeżeli stwierdza się obecność alloprzeciwciał, przed każdym przetoczeniem KKCz należy zidentyfikować swoistość wykrytych przeciwciał i wykonać próbę serologicznej zgodności z surowicą matki.

W przypadku, gdy krew matki jest niedostępna i stwierdza się brak obecności alloprzeciwciał oraz ujemny BTA w surowicy dziecka, to należy wykonać próbę serologicznej zgodności przed pierwszym przetoczeniem, a następne jednostki można przetaczać bez jej wykonywania. Jeżeli jednak stwierdza się obecność przeciwciał, to należy ustalić ich swoistość i wykonywać próbę serologicznej zgodności przed każdym przetoczeniem.

Do badań immunohematologicznych wykonywanych na potrzeby krwiolecznictwa zalicza się także badania wykonywane podczas analizy przeprowadzanej

w pracowniach konsultacyjnych regionalnych centrów krwiodawstwa i krwiolecznictwa po wystąpieniu u pacjenta niepożądanego odczynu poprzetoczeniowego. Obowiązuje wówczas wykonanie kontrolnego badania grupy krwi w układzie ABO i RhD w próbkach krwi pobranej od biorcy przed i po przetoczeniu składnika krwi oraz w pojemniku po przetoczonym składniku krwi i w segmentach drenów, które służyły do wykonania próby zgodności, powtórne wykonanie próby zgodności, wykonanie badania w kierunku obecności alloprzeciwciał w próbkach krwi biorcy pobranych przed i po przetoczeniu z zastosowaniem mikrometody kolumnowej oraz wykonanie BTA z krwinkami biorcy pobranymi po przetoczeniu składnika krwi. W przypadku uzyskania dodatniego wyniku BTA należy wykonać elucję w celu usunięcia przeciwciał związanych

z krwinkami czerwonymi in vivo i zidentyfikować ich swoistość. Pozostałe badania, których wykonanie jest niezbędne podczas postępowania w przypadku wystąpienia niepożądanego poprzetoczeniowego odczynu, to badania bakteriologiczne w próbkach pobranych z pojemników zawierających resztki przetoczonego składnika krwi oraz badania w kierunku obecności przeciwciał anty-HLA.

Wykonywanie badań immunohematologicznych w pracowniach immunologii transfuzjologicznej z wykorzystaniem nowoczesnych i czułych metod i technik ma na celu przygotowanie bezpiecznej krwi i jej składników do przetoczenia i – w ramach czuwania nad bezpieczeństwem krwi – eliminowanie ryzyka wystąpienia niepożądanych odczynów poprzetoczeniowych u biorców.

Piśmiennictwo:

1. Fabijańska-Mitek J. (red.): Immunologia krwinek czerwonych. Grupy krwi. Oinpharma 2007.

2. Groopman J.E., Itri L.M.: Chemotherapy-induced anaemia in adults: incidence and treatment. Journal of National Cancer Institute 1999 (oprac. Górski P. w Bibliotece edukacyjnej Janssen-Cilag 2000).

3. Korsak J., Łętowska M.: Transfuzjologia kliniczna. α-medica Press, Warszawa 2009.

4. Łętowska M. (red.): Medyczne zasady pobierania krwi, oddzielania jej składników i wydawania, obowiązujące w jednostkach organizacyjnych publicznej służby krwi. Warszawa 2006; wersja 4: warszawa 2010.

dr n. przyr. Elżbieta Klaus

*Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa
we Wrocławiu*

NAGRODA NOBLA 2010 W DZIEDZINIE MEDYCYNY*LabMedInt November 2010 (LabMedica.com)*

Nagrodę Nobla 2010 w dziedzinie medycyny otrzymał brytyjski uczony prof. Robert Edwards za opracowanie metody zapłodnienia in vitro. Współpracując z internistą dr Patrickiem Steptoe’em stworzyli nowe możliwości dla bezpłodnych par na całym świecie. Pierwsze „dziecko z probówki” urodziło się 33 lata temu. Technika, która w owym czasie była traktowana jako „high technology”, stopniowo przekształcała się w postępowanie rutynowe, budzące jednocześnie wątpliwości natury etycznej i prawnej. Do tej pory dzięki zapłodnieniu in vitro urodziło się ponad 4,3 mln dzieci.

STĘŻENIE CRP UWARUNKOWANE GENETYCZNIE?*LabMedInt November 2010 (LabMedica.com). Circulation. Cardiovascular genetics sep 2010*

Stężenie CRP wzrasta w odpowiedzi na infekcje bakteryjne, co jest uznanym czynnikiem ryzyka rozwoju zmian miażdżycowych. Wiadomo też, że poziom ulega obniżeniu pod wpływem statyn. Pozytywny wpływ tego zjawiska nie został jednak w pełni udowodniony. W University College (Londyn) poddano analizie dane ponad 200 tys. osób uczestniczących w badaniach opublikowanych w 89 pracach, przyjmując za punkt odcięcia stężenie CRP 2 mg/l. Badanie wykazało, że wartości CRP różniły się w różnych grupach etnicznych nawet po uwzględnieniu wieku i BMI. Najwyższe stwierdzono u Afroamerykanów (2,6 mg/l), najniższe w populacji mieszkańców wschodniej Azji (1,01 mg/l). Uwzględniono takie populacje, jak Latynosi, przedstawiciele rasy kaukaskiej oraz Azji Południowej.

OTYŁOŚĆ DOROSŁYCH NASTĘPSTWEM OTYŁOŚCI MŁODZIEŃCZEJ*JAMA 2010, 304, 2042.*

Problem otyłości w różnych grupach wiekowych narasta głównie w krajach wysoko rozwiniętych zwiększając ryzyko rozwoju chorób cywilizacyjnych. Celem badań opublikowanych w *Journal of the American Medical Association (Nov 2010)* była ocena ryzyka rozwoju otyłości u dorosłych, u których otyłość wystąpiła już w młodości. Badania w grupie ponad 8 tysięcy osób wykonano w trzech fazach: w 1996 roku, (badani w wieku 12–21 lat), w 2002 r. (badani w wieku 18–27 lat) oraz w 2007–2009 (badani w wieku 24–33 lat). Za wykładnik otyłości młodszej przyjęto BMI 30 kg/m² i powyżej, a otyłości dorosłych 40 kg/m² i powyżej. Autorzy wykazali zwiększone ryzyko otyłości w wieku dorosłym u 37% mężczyzn i 51% kobiet ze stwierdzoną otyłością młodzieńczą.

MATERIAŁ REFERENCYJNY DLA BIAŁEK*Clinical Chemistry 2010, 56, 1880.*

Materiał referencyjny jest podstawą standaryzacji metod oznaczeń. W 1993 r. Bureau Communautaire de Reference opracowało wspólnie z IFCC materiał referencyjny CRM 470 dla 15 białek, który stał się podstawą przygotowania kalibratorów białkowych przez producentów zestawów diagnostycznych. Materiał ten później zmienił nazwę na ERM-DA470. Ostatnio (2010) został opracowany nowy materiał, który ma zastąpić dotychczas stosowany. Nosi on nazwę ERM-DA470/IFCC i został certyfikowany dla następujących białek: alfa-2-makroglobulina, alfa-1-kwaśna glikoproteina, alfa-1-antytrypsyna, albumina, komplement 3c, komplement C4, haptoglobina, IgA, IgG, IgM, transferyna, prealbumina. Wyniki dla CRP i ceruloplazminy wykazywały zbyt duże rozbieżności i nie uzyskały certyfikacji.

