

Показатели незрелых клеток крови при циррозах печени

И.Б. Барановская, к.б.н.

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Краевая клиническая больница № 2» министерства здравоохранения Краснодарского края (ГБУЗ «ККБ №2»), г. Краснодар

Актуальность

Цирроз печени является тяжелым прогрессирующим заболеванием, приводящим к печеночной недостаточности. Так как именно в печени синтезируется широкий спектр метаболитов, необходимых для кроветворения, цитопения является неизменным спутником цирроза печени.

Диагностика цитопенического синдрома основана на периферическом анализе крови, в котором выявляется анемия, чаще нормоцитарная или макроцитарная (после повторных кровотечений – гипохромная микроцитарная с умеренным ретикулоцитозом), лейкопения с нейтропенией и/или лимфоцитопенией, тромбоцитопения [2].

По данным [4] частота анемий при циррозе печени составляет 28,6%. Секвестрация эритроцитов в некоторых случаях имеет большое значение, но зачастую доминирующим механизмом анемии является увеличение кровотока через селезенку и портальные вены, и как следствие, дилуционная анемия [6, 9].

Цирроз печени протекает с развитием качественных и количественных изменений тромбоцитов. Ряд авторов сообщают о комплексном нарушении системы гемостаза, в том числе тромбоцитопении [5, 8, 10]. Около 40% пациентов с ЦП имеют удлинение времени кровотечения более 10 минут и число тромбоцитов менее $100 \times 10^9 / \text{л}$ [2]. Уменьшение уровня тромбоцитов обусловлено увеличением их распада в селезенке на фоне спленомегалии [3], разрушением тромбоцитов в ходе иммунологических реакции [2], угнетения активности мегакариоцитов и уменьшением продукции тромбопоэтина [10]. Продолжительность жизни тромбоцитов у больных с циррозом печени снижается от 9,3 до 6,5 дней [11].

Изменения лейкоцитарного клеточного роста заключаются в преимущественном развитии лейкопении. Считается, что основную роль в этом процессе играет снижение продукции, а не повышенный распад лейкоцитов [2]. Есть данные о миелосупрессивном влиянии вирусов гепатита В и С на предшественники лейкопоэза [7].

При цитопеническом синдроме в костномозговом пунктате может наблюдаться компенсаторная гиперплазия с преобладанием незрелых предшественников эритроцитов и тромбоцитов [2].

Очевидно, что внедрение в рутинную лабораторную практику автоматизированных систем анализа крови, предоставляющих данные о незрелых предшественниках гемопоэза, способствует получению новой инфор-

мации об особенностях кроветворения при гематологических синдромах. Однако к настоящему времени в специальной литературе имеются лишь единичные публикации, касающиеся показателей незрелых клеток крови при циррозах печени [8, 9, 12].

Цель работы – проанализировать информативную ценность показателей незрелых клеток крови при циррозах печени.

Методы

Анализировались гемограммы 64 пациентов с верифицированным циррозом печени, сопровождающимся тромбоцитопенией (38- вирусной этиологии, 24 – алиментано-токсической, 2 – криптогенного генеза). Средний возраст пациентов основной группы составил $62,1 \pm 39,5$ лет (30 мужчин и 34 женщины). Контрольная группа была представлена гемограммами 70 здоровых лиц $55,3 \pm 28,7$ лет, проходивших профилактический медосмотр (35 мужчин и 35 женщин), с диагнозом «здоров».

Образцы крови исследовались на анализаторе Sysmex-XE 2100. Исследовались следующие показатели гемограммы:

1) лейкоцитарные: количество лейкоцитов (WBC, $10^9 / \text{л}$), относительное количество незрелых гранулоцитов (IG, %), абсолютное количество незрелых гранулоцитов (IG, $10^9 / \text{л}$);

2) ретикулоцитарные и эритроцитарные: относительное количество ретикулоцитов (Ret, %), абсолютное количество ретикулоцитов (Ret, $\times 10^{12} / \text{л}$), относительное количество незрелых ретикулоцитов (IRF, %), относительное количество ретикулоцитов с низкой, средней и высокой флуоресценцией (LFR%, MFR% и HFR%), среднее содержание гемоглобина в ретикулоците (Ret-He, пг), дельта – гемоглобин (D-He, пг).

3) тромбоцитарные: количество тромбоцитов, измеренное в импедансном режиме (PLT, $10^9 / \text{л}$), количество тромбоцитов, измеренное в оптическом режиме (PLT-O, $10^9 / \text{л}$), относительное количество незрелых тромбоцитов (IPF, %), коэффициент вариации тромбоцитов по объему (PDW, %), средний объем тромбоцита (MPV, фл), процент больших тромбоцитов больше 12 фл (P-LCR, %), тромбокрит (PCT, %)

Анализируемые показатели были разделены на две группы: получаемые при помощи импедансной технологии (традиционные параметры) и проточной цитофлуорометрии (исследовательские параметры).

Статистическая обработка данных производилась с помощью программ Statistica 7 и Excell 2003. Ис-

пользовались следующие статистические параметры: M – среднее значение, Sd – стандартное отклонение, $Sd\ er$ – стандартная ошибка. Межгрупповые различия оценивались на основе критерия Стьюдента при уровне значимости $p \leq 0,05$. Анализировались статистически значимые ($p \leq 0,05$) коэффициенты корреляции по Пирсону (r). Для анализа распределения значений показателей рассчитывалась кривые, отображающие плотность вероятности $p(x)$ (отношение вероятности к длине интервала), и представляющие собой теоретический аналог гистограммы.

Результаты

Известно, что у здоровых людей 20–60 лет значения показателей незрелых клеток (содержание незрелых гранулоцитов, количество ретикулоцитов и незрелых тромбоцитов) и их производных (дельта- гемоглобин, среднее содержание гемоглобина в ретикулоцитах, количество фрагментированных эритроцитов) не зависят от пола и возраста [1]. Гематологические нарушения при циррозе печени в большинстве случаев не связаны с этиологией заболевания, и обусловлены, преимущественно, степенью снижения функции печени.

В табл. 1. представлены данные, касающиеся лейкоцитарных и тромбоцитарных показателей, у пациентов с циррозом печени, сопровождающихся тромбоцитопенией, и контрольной группы.

Таблица 1. Лейкоцитарные и тромбоцитарные показатели при циррозах печени

Показатели	Основная группа (циррозы)	Контрольная группа (здоровые)
	$M \pm Sd (St\ er)$	
WBC, $10^9/\text{л}$	$5,06 \pm 3,37 (0,42)$	$7,01 \pm 1,81 (0,18)$
IG, %	$0,44 \pm 0,77 (0,10)$	$0,19 \pm 0,11 (0,01)$
IG, $10^9/\text{л}$	$0,04 \pm 0,15 (0,02)$	$0,01 \pm 0,01 (0,00)$
PLT, $10^9/\text{л}$	$82,45 \pm 30,51 (3,81)$	$256,03 \pm 53,36 (5,31)$
PLT-O, $10^9/\text{л}$	$92,08 \pm 32,30 (4,04)$	$290,81 \pm 61,53 (6,28)$
IPF, %	$3,23 \pm 1,7 (0,22)$	$1,89 \pm 1,16 (0,12)$
PDW, %	$13,31 \pm 1,99 (0,29)^*$	$13,17 \pm 1,66 (0,17)^*$
MPV, %	$11,19 \pm 0,91 (0,13)^*$	$11,08 \pm 0,78 (0,08)^*$
P-LCR, %	$34,4 \pm 7,27 (1,06)^*$	$33,64 \pm 6,82 (0,69)^*$
PCT, %	$0,09 \pm 0,03 (0,01)$	$0,28 \pm 0,06 (0,01)$

Примечание: * – межгрупповые различия статистически недостоверны ($p > 0,05$)

В соответствии с табл. 1. у пациентов с циррозами, по сравнению с контрольной группой, статистически значимо снижено количество лейкоцитов до $5,06 \pm 3,37 \times 10^9/\text{л}$. Индивидуальный анализ показал, что у 46,8% пациентов снижение содержания лейкоцитов носит характер лейкоцитопении ($WBC < 4,0 \times 10^9/\text{л}$).

Содержание незрелых гранулоцитов при циррозах, сопровождающихся тромбоцитопенией, увеличено до $0,44 \pm 0,77\%$ или $0,04 \pm 0,15 \times 10^9/\text{л}$.

На рис. 1. представлены гистограммы распределения значений относительного количества незрелых гранулоцитов основной и контрольной групп. В контрольной группе $IG\% \leq 0,57\%$. У пациентов с циррозами

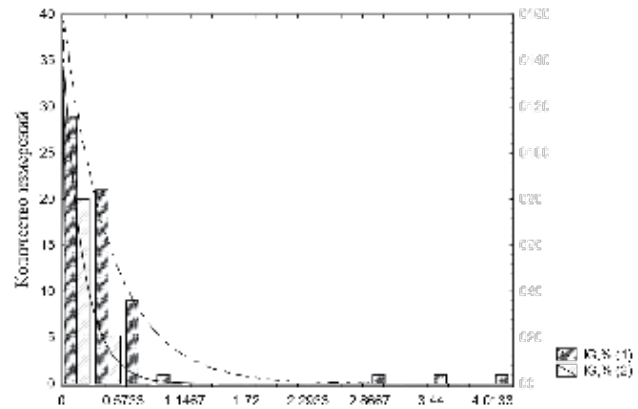


Рис. 1. Гистограммы распределения незрелых гранулоцитов 1 – циррозы, 2 – контрольная группа

также наиболее вероятное значение $IG\% < 0,5\%$. Однако у 21,8% пациентов значение $IG\% \leq 0,6\%$. Длинный «хвост» распределения достигает значений $IG > 4,0\%$ у 6,2% пациентов.

Вероятно, увеличение содержания незрелых нейтрофилов у части пациентов с циррозами обусловлено задержкой созревания части гранулоцитов на стадии промиелоцита, миелоцита или метамиелоцита. Возможно, задействованы и механизмы снижения пролиферации клеток гранулоцитарного ростка на уровне костного мозга и/или повышенная деструкция лейкоцитов на периферии.

Что касается тромбоцитарных показателей, рассчитанных на основе кондуктометрического подсчета тромбоцитов (PDW, MPV и P-LCR), то здесь, в соответствии с данными табл. 1, достоверных межгрупповых различий не зарегистрировано. То есть ни степень анизцитоза тромбоцитов, ни их объем, ни даже процент больших тромбоцитов (параметр P-LCR) статистически значимо не увеличены при тромбоцитопении.

В соответствии с полученными данными, у пациентов с циррозом печени, по сравнению с контрольной группой, количество тромбоцитов достоверно снижено до $82,45 \pm 30,51 \times 10^9/\text{л}$ (табл. 1). Содержание тромбоцитов, измеренное в оптическом режиме (показатель PLT-O) на 10,5% выше, чем измеренное кондуктометрически и составляет $92,08 \pm 32,30 \times 10^9/\text{л}$ (табл. 2). Значения PLT-O могут быть дополнительным критерием принятия клинического решения о потенциальной трансфузионной терапии в случае критических концентраций тромбоцитов, так как измеряют количество тромбоцитов наиболее корректно.

Установлено, что количество незрелых тромбоцитов у пациентов с циррозом печени, сопровождающихся тромбоцитопенией, достоверно увеличено до $3,23 \pm 1,7\%$ (табл. 2). Имеет место обратная зависимость между содержанием тромбоцитов (PLT и PLR-O) и их незрелых форм (IPF) ($r = -0,44$ и $r = -0,45$, соответственно). В контрольной группе достоверная сопряженность между количеством зрелых и незрелых тромбоцитов отсутствует.

Рис. 2 демонстрирует гистограммы распределения незрелых тромбоцитов основной и контрольной групп.

В соответствии с рис. 2 у 11% пациентов с циррозами значения IPF принимают числовой диапазон 5,5–9,0%.

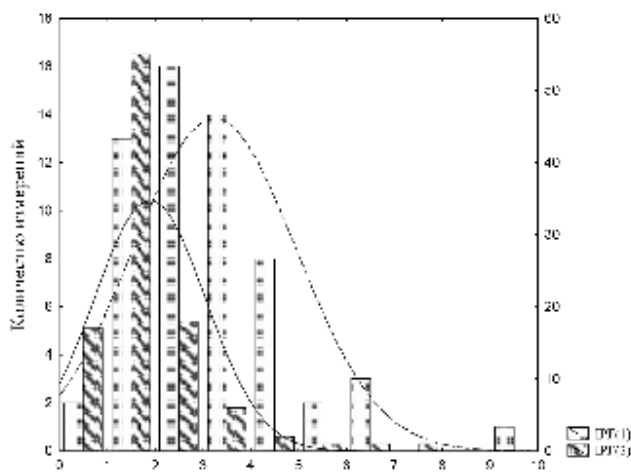


Рис. 2. Количество незрелых тромбоцитов
1 – циррозы, 2 – контрольная группа

Увеличенное содержание незрелых тромбоцитов при циррозе печени, вероятно, обусловлено ускоренным образованием и поступлением клеток из костно-мозгового депо на периферию в присутствии тромбоцитопении. Так же как и случае с лейкоцитами действует принцип обратной связи между содержанием зрелых и незрелых клеточных форм.

В табл. 2 представлены данные, касающиеся показателей ретикулоцитарного и эритроцитарного анализа, получаемых посредством проточной цитофлуориметрии.

Таблица 2. Ретикулоцитарные и эритроцитарные показатели при циррозах печени

Показатели	Основная группа (циррозы)	Контрольная группа
	M±Sd (St er)	
Ret, %	1,99±1,54 (0,19)	1,10±0,33 (0,03)
Ret #, 10 ¹² /л	0,07±0,04 (0,00)	0,05±0,02 (0,000)
IRF, %	5,03±4,85 (0,61)	3,35±1,78 (0,18)
LFR, %	94,97±4,84 (0,61)	96,59±1,82 (0,18)
MFR, %	4,56±4,15 (0,52)	3,18±1,67 (0,17)
HFR, %	0,47±0,9 (0,11)	0,18±0,20 (0,02)
Ret-He, пг	29,15±5,52 (0,69)	32,54±1,32 (0,13)
D-He, пг	2,71±1,97 (0,25)*	2,90±0,72 (0,07)*
Frg, %	0,83±1,21 (0,15)	0,10±0,14 (0,01)

Примечание: * – межгрупповые различия статистически недостоверны ($p > 0,05$)

В соответствии с табл. 2 имеют место статистически значимые межгрупповые различия между всеми параметрами ретикулоцитарного и эритроцитарного анализа за исключением дельта-гемоглобина (D-He).

Рис. 3 и рис. 4 демонстрируют гистограммы распределения абсолютного количества ретикулоцитов и относительного содержания незрелых ретикулоцитов у пациентов с циррозами и контрольной группы.

Из рис. 3 и табл. 2 следует, что в контрольной группе наиболее вероятное значение Ret# около $0,05 \times 10^{12}/л$. Характер распределения значения показателя близок к нормальному гауссовому. Кривая распределения Ret# пациентов с циррозами – пологая, с экстремумом Ret# = $0,1 \times 10^{12}/л$. У 15,6% пациентов абсолютное ко-

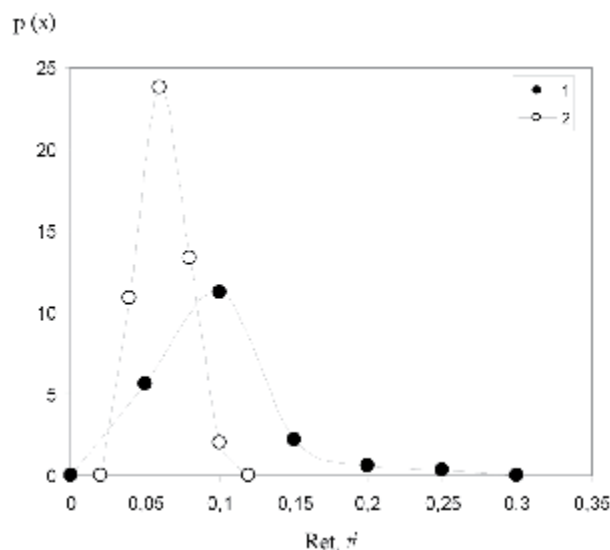


Рис. 3. Абсолютное количество ретикулоцитов
1 – циррозы, 2 – контрольная группа

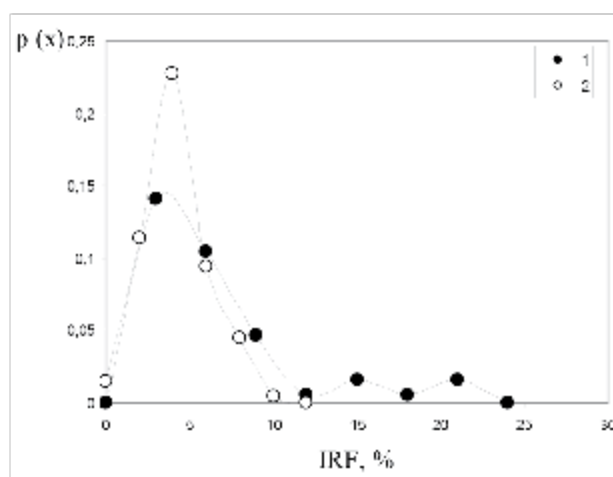


Рис. 4. Относительное количество незрелых ретикулоцитов
1 – циррозы, 2 – контрольная группа

личество ретикулоцитов больше $0,1 \times 10^{12}/л$, достигая значений $0,3 \times 10^{12}/л$.

Относительное количество ретикулоцитов незрелых фракций статистически значимо увеличено у пациентов с циррозами, по сравнению с контрольной группой (табл. 3). И хотя экстремумы кривых распределения IRF основной и контрольной групп практически совпадают, составляя IRF=5%, рис. 4 демонстрирует выраженную правостороннюю асимме-

Таблица 3. Взаимосвязь между зрелыми и незрелыми клетками при циррозах печени

Показатели	WBC	IG%	RBC	PLT	IPF%	Ret%	IRF%
WBC	1,00	0,13	-0,17	0,61	-0,36	0,22	-0,03
IG%	0,13	1,00	-0,57	0,00	-0,18	0,81	0,64
RBC	-0,17	-0,57	1,00	-0,03	0,37	-0,73	-0,53
PLT	0,61	0,00	-0,03	1,00	-0,45	-0,06	-0,04
IPF%	-0,36	-0,18	0,37	-0,45	1,00	-0,19	-0,03
Ret%	0,22	0,81	-0,73	-0,06	-0,19	1,00	0,60
IRF%	-0,03	0,64	-0,53	-0,04	-0,03	0,60	1,00

Примечание: жирным шрифтом выделены статистически значимые коэффициенты корреляции при $p < 0,05$

трию распределения значений показателя при циррозе печени. У 11% пациентов $IRF \geq 10,0\%$.

Анализируя данные табл. 2. отметим, что при циррозе печени, сопровождающемся тромбоцитопенией, имеет место увеличение относительно и абсолютного количества ретикулоцитов ($1,99 \pm 1,54\%$ и $0,07 \pm 0,04 \times 10^{12}/л$).

«Левый сдвиг» ретикулоцитарной формулы обусловлен возрастанием количества клеток незрелых формаций до $5,03 \pm 4,85\%$, включающий увеличение относительного содержания ретикулоцитов со средней и высокой флуоресценцией ($4,56 \pm 4,15\%$ и $0,47 \pm 0,9\%$, соответственно) и уменьшение фракции ретикулоцитов с низкой флуоресценцией зрелых до $94,97 \pm 4,84\%$. По сравнению с контрольной группой при циррозах печени среднее содержание гемоглобина снижено до $29,15 \pm 5,52$ пг ($p < 0,05$).

Безусловно, выявленные особенности ретикулоцитарного анализа связаны, в том числе, с анемией, имеющей место у 71,9 % пациентов. Однако, вероятно, и гемолиз эритроцитов в периферическом кровяном русле, по принципу обратной связи, стимулирует эритропоэз. О наличии гемолитического компонента дополнительно свидетельствует факт статистически значимого увеличения фрагментированных эритроцитов (Frg) до $0,83 \pm 1,21\%$ при циррозе печени (табл. 3).

Значение дельта-гемоглобина (D-He), являющейся разностью содержания гемоглобина в ретикулоцитах и эритроцитах, у пациентов с циррозом печени составило $2,71 \pm 1,97$ пг, достоверно не отличаясь от аналогичного показателя контрольной группы ($p > 0,05$). Индивидуальный анализ показал, что у лиц контрольной группы значение D-He всегда положительно, в среднем составляет 2–3 пг, и только у 4,9% дельта-гемоглобин варьирует в интервале $4,2 \leq D-He \leq 4,5$ пг.

Совсем иной числовой диапазон значений D-He соответствует пациентам с циррозом. Он включает как область отрицательных значений ($-3,5 \geq D-He \geq 0$), так и область положительных величин ($0 \leq D-He \leq 7,5$). Отрицательные значения D-He, вероятно, обусловлены сопутствующим воспалением.

Вариабельность клеток по насыщению гемоглобином зависит от наличия в костном мозге разных клонов среди клеток красного ряда, что характеризуется присутствием в периферической крови эритроцитов, отличающихся по содержанию гемоглобина. При циррозах имеет место нарушение синтеза витамина В-12, следовательно, отдельные клоны эритроцитов могут быть представлены макроцитами и мегалоцитами. Значительные положительные значения D-He у ряда пациентов с циррозом свидетельствуют о том, что процесс гемоглобинизации клеток красной крови на уровне костного мозга не нарушен (ретикулоциты насыщены железом). Ускоренный гемолиз отдельных гемоглобинизированных популяций эритроцитов зависит от их структурной и функциональной неполноценности.

В табл. 3 представлена корреляционная матрица, демонстрирующая взаимосвязь между показателями зрелых и незрелых клеток при циррозах печени.

В соответствии с табл.3 содержание лейкоцитов достоверно связано только с количеством тромбоцитов ($r=0,61$). То есть на уровне зрелых клеток лейкоцито- и тромбоцитопоз у больных с циррозом печени, ассоциированном с тромбоцитопенией, сопряжены.

Несмотря на то, что у больных с циррозом печени по сравнению с контрольной группой содержание незрелых гранулоцитов статистически значимо выше (табл. 1), отмечено отсутствие математической взаимосвязи между WBC и IG% у пациентов основной группы ($r \approx 0$). При этом в контрольной группе зарегистрирована достоверная прямая зависимость между общим количеством лейкоцитов и относительным содержанием незрелых гранулоцитов ($r=0,35$). Вероятно в норме уменьшение содержания зрелых клеток в периферическом кровяном русле по принципу «обратной связи», стимулирует выход из костно-мозгового депо гранулоцитов низкой степени зрелости. При циррозах имеет место дисрегуляция между зрелыми и незрелыми клетками лейкоцитопоза.

Установлено, что с увеличением количества эритроцитов уменьшается содержание незрелых гранулоцитов ($r=-0,57$) и ретикулоцитов низкой степени зрелости ($r=-0,53$). Реципрокная взаимосвязь между количеством эритроцитов и их незрелых форм – ретикулоцитов ($r=-0,73$), аппроксимированная экспонентой, продемонстрирована на рис. 5.

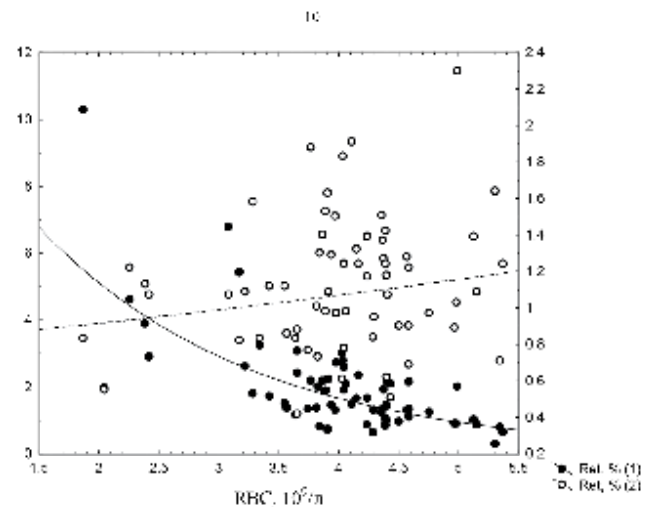


Рис. 5. Взаимосвязь между содержанием эритроцитов и ретикулоцитов 1 – циррозы, 2 – контрольная группа

Пунктирная линия соответствует линии тренда скеттограммы аналогичных показателей контрольной группы. То есть в норме имеет место отсутствие достоверной математической взаимосвязи между RBC и Ret% (коэффициент корреляции близок к нулю).

В соответствии с данными табл.3 при циррозах печени повышение относительного количества ретикулоцитов в периферическом кровяном русле сопровождается усиленным выбросом из костно-мозгового депо ретикулоцитов низкой степени зрелости ($r=0,60$), а также увеличением содержания незрелых гранулоцитов ($r=0,81$).

У лиц контрольной группы также зарегистрирована прямая взаимосвязь между Ret% и IRF со статистически значимым коэффициентом корреляции ($r=0,44$). Однако математическая взаимосвязь между Ret% и IG% отсутствует (коэффициент корреляции близок к нулю).

Таким образом, при циррозах печени имеет место сопряженность процессов пролиферации незрелых эритроцитарных и лейкоцитарных клеток. Математическая взаимосвязь между незрелыми тромбоцитами и «молодыми» клетками других клеток крови отсутствует ($r\approx 0$).

Выводы

1. При циррозах печени, сопровождающихся тромбоцитопенией, по сравнению с контрольной группой, статистически значимо повышено содержание незрелых клеток эритроцитарного, лейкоцитарного и тромбоцитарного ростков гемопоэза. Увеличено относительное количество ретикулоцитов до $1,99\pm 1,54\%$, абсолютное количество ретикулоцитов до $0,07\pm 0,04\times 10^{12}/л$, относительное количество незрелых ретикулоцитов до $5,03\pm 4,85\%$, относительное количество незрелых гранулоцитов до $0,44\pm 0,77\%$ абсолютное количество незрелых гранулоцитов до $0,04\pm 0,15\times 10^9/л$, относительное количество незрелых тромбоцитов до $3,23\pm 1,7\%$.

2. Повышение количества фрагментированных эритроцитов до $0,83\pm 1,21\%$ на фоне тенденции к ретикулоцитозу и «омоложения» ретикулоцитарной формулы является дополнительным маркером гемолиза при циррозах печени.

3. Имеет место обратная зависимость между содержанием зрелых и незрелых эритроцитов ($r=-0,73$), тромбоцитов ($r=-0,45$), а также дизрегуляция между количеством зрелых и незрелых клеток лейкоцитопоэза ($r\approx 0$).

4. Установлена сопряженность пролиферации незрелых эритроцитарных (Ret%) и лейкоцитарных (IG%) клеток крови ($r=0,81$).

Литература

1. Барановская И.Б., Зенцова О.А., Самохина О.Ф., Демидченко Г.А., Тен Ф.П. Новые показатели общего анализа крови в клинической практике // Клиническая лабораторная диагностика. 2013. № 12. С. 19-23.
2. Колесникова Е. В. Гематологические осложнения цирроза печени // Острые и неотложные состояния в практике врача. – 2011. - № 2. - С. 32-36.
3. Луговская С.А. Лабораторная гематология. – М. –Тверь: Триада, 2006. – 224 с.
4. Носкова К.К., Лищинская А.А., Мелькина Е.С. и др. Частота анемий среди больных гастроэнтерологического стационара // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2011. № 10. С. 9-11.
5. Тугушев А.С., Кремзер А.А., Избицкий В.В. и др. Оценка показателей гемостаза при циррозе печени// Запорожский медицинский журнал. 2011. Т.13. № 3. С. 74-75.
6. Ashraf S., Naeem S. Frequency of Hypersplenism in Chronic Liver Disease Patients Presenting with Pancytopenia // Special edition annals. 2010. V. 16.. №1. P. 108–110.
7. Hoffbrand A.V., Moss P.A., Pettit J.E. Haematological changes in systemic diseases // Essential Haematology. – Massachusetts USA: Blackwell, 2006. P. 325–326.
8. Homoncik M., Jilma-Stohlawetz P, Schmid M, Ferlitsch A, Peck-Radosavljevic M. Erythropoietin increases platelet reactivity and platelet counts in patients with alcoholic liver cirrhosis: a randomized, double-blind, placebo-controlled study // Aliment Pharmacol Ther. 2004. 15;20(4):437-443.
9. Kalambokis G., Tsianos E.V. Endotoxaemia in the pathogenesis of cytopenias in liver cirrhosis. Could oral antibiotics raise blood counts? // Med. Hypoth. 2011. –V. 76 (1). P. 105–109.
10. Kim H.R., Park B.R., Lee M.K., Park A.J., Ahn J.Y. Comparison of an immature platelet fraction and reticulated platelet in liver cirrhosis // Korean J Lab Med. 2007. 27(1):7-12.
11. Kuter D.J. New thrombopoietic growth factors // Blood. 2007. V. 109. – P. 4607–4616.
12. Parker R., Armstrong M.J., Bruns T. et al. // Reticulocyte count and hemoglobin concentration predict survival in candidates for liver transplantation. Transplantation. 2014. 27;97(4):463-469.