

УДК 616.155.153:616.15-07

Л.І. Сергієнко

Національна медична академія  
післядипломної освіти імені  
П.Л. ШупикаКЛІНІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ВИЗНАЧЕННЯ  
ПАРАМЕТРІВ РЕТИКУЛОЦИТІВ

**Ключові слова:** ретикулоцити,  
ретикулоцитарні параметри,  
клінічне значення.

**Резюме.** У статті представлено дані про морфологію та фізіологію ретикулоцитів. Описано методи визначення кількісних і якісних параметрів ретикулоцитів, зокрема за допомогою гематологічних аналізаторів, а також їх клінічне значення.

**Актуальність**

Загальноклінічні методи дослідження периферичної крові посідають важливе місце в діагностиці та моніторингу лікування гематологічних захворювань. До важливих показників периферичної крові належить визначення кількісних і якісних характеристик ретикулоцитів.

**Мета роботи:**

Систематизувати та узагальнити дані літератури про діагностичне значення змін параметрів ретикулоцитів.

**Основна частина**

Ретикулоцити - це молоді еритроцити, в яких при суправітальному фарбуванні виявляється ретикулофіламентозна субстанція [1]. Субстанція ретикулоцитів являє собою агрегати з мітохондрій, рибосом, залишків ендоплазматичного ретикулу та інших органел, які наявні в ретикулоциті. У міру дозрівання ретикулоцитів означена субстанція визначається у вигляді клубків, зернистості, сіточки або окремих пилинок. А також, дозріваючи, кількість сітчастої субстанції в ретикулоцитах зменшується [2].

Час дозрівання ретикулоцитів становить 4,5 дня, з них протягом 3 днів вони дозрівають у периферичній крові [1]. Більшість ретикулоцитів проводять в кістковому мозку 1-2 дні перед виходом в системну циркуляцію. Вийшовши в циркуляцію, де вони становлять 1-2% серед еритроцитів, ретикулоцити в подальшому дозрівають протягом 1-2 днів, перетворюючись на нормоцит [3].

Незважаючи на відсутність ядра, метаболізм у цих клітинах залишається активним. У них виявляють внутрішньоклітинні структури, пов'язані з синтезом білків (мітохондрії, рибосоми, апарат Гольджі). Багато ферментів (піруваткіназа, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа, каталаза та ін.) присутні в ретикулоцитах у більшій концентрації, ніж у зрілих еритроцитах. Перебуваючи в кістковому мозку, ретикулоцити здатні синтезувати гемоглобін. Одночасно в ретикулоцитах існує

анаеробний гліколіз. Вони містять ті ж поверхневі антигенні структури, що і еритроцити (глікофорин А, групові антигени). Ретикулоцити здатні адсорбувати молекули заліза за допомогою рецепторів до трансферину, щільність яких знижується в міру дозрівання клітини [1]. У процесі подальшого дозрівання клітин відбувається зникнення полірибосом та екзоцитоз мітохондрій, що проявляється зменшенням кількості ретикулофіламентозного матеріалу. На кінцевій стадії ретикулоцит втрачає здатність до утилізації кисню для синтезу АТФ і синтезувати гемоглобін [4].

Середній обсяг ретикулоцитів на 24-35% більше еритроцитів (101-128 фл), а концентрація гемоглобіну в них нижча, ніж у зрілому еритроциті, що пояснює появу гіпохромних макроцитів у периферичній крові при станах, що супроводжуються ретикулоцитозом [4].

Залежно від ступеня зрілості виділяють 5 груп ретикулоцитів [4, 5, 6]:

- 0 група - еритрокаріоцити з густою ретикулофіламентозною сіткою в центрі (оксифільний нормоцит);
- I група - ретикулоцити з грубою кулястою сіткою в центрі;
- II група - ретикулоцити з менш густою сіткою, поширеною по всій цитоплазмі;
- III група - клітини з обривками ретикулофіламентозної сітки в різних ділянках цитоплазми;
- IV група - ретикулоцити з поодинокими нитками або гранулами ретикулофіламентозної сітки в окремих ділянках цитоплазми.

У нормі в периферичній крові виявляються ретикулоцити III-IV груп (близько 61% ретикулоцитів належать до IV групи, 32% - до III, 7% - до II і лише близько 0,1% - до I групи). Ліве зрушення ретикулоцитів в бік незрілих клітин (0-I-II групи) на фоні ретикулоцитозу спостерігається при активації еритропоезу [4].

Регуляція еритропоезу, у тому числі і швидкість дозрівання ретикулоцитів, здійснюється еритропоетином (ЕПО) [1]. При високій швидкості еритропоезу кістковий мозок вивільняє в кров ядровмісні попередники еритроцитів. У від-

повідь на гіпоксію підвищується продукція ЕПО, що призводить до посилення еритропоезу з гіперплазією еритроїдного паростка (переважання попередників еритроцитів над попередниками лейкоцитів). Знижена швидкість утворення ретикулоцитів може свідчити про неефективний еритропоез, при якому руйнування попередників еритроцитів в кістковому мозку відбувається швидше, ніж вивільнення в кров, або про інфільтрацію кісткового мозку пухлинними чи аномальними клітинами. Зниження числа ретикулоцитів відзначається також при апластичних станах, для яких характерне зниження продукції лейкоцитів і еритроцитів. У будь-якому випадку продукція ретикулоцитів є найбільш важливим показником функціонального стану кісткового мозку [7]. Збільшення вмісту ретикулоцитів в крові свідчить про прискорення еритропоезу, що найбільш характерно для гемолітичних анемії [3].

У дорослої людини міститься від 2 до 10 ретикулоцитів на 1000 еритроцитів ( $30-70 \times 10^9/\text{л}$ ) [1, 8]. Кількість ретикулоцитів у крові значною мірою залежить від віку та статі пацієнта. У жінок вміст ретикулоцитів більш високий, ніж у чоловіків. У новонароджених у пуповинній крові їх кількість коливається в межах 20-60% [9, 10]. Число ретикулоцитів в крові відображає регенеративні властивості кісткового мозку. Збільшення числа ретикулоцитів спостерігається при посиленому кровотворенні, а зниження - при пригніченні регенераторної функції кісткового мозку.

Підвищення кількості ретикулоцитів можливе при гемолітичних анеміях, особливо в період кризи (кількості ретикулоцитів може підвищуватися до 20-30% і більше); на фоні лікування ціанкобаламіном  $B_{12}$ -дефіцитної анемії (ретикулоцитарний криз на 5-9-й день лікування); на 3-5-й день лікування залізодефіцитної анемії за допомогою парантерального введення препаратів заліза; на 3-5-й день після крововтрати (ретикулоцитарний криз); гострій нестачі  $O_2$ , таласемії, малярії [5, 8, 9].

Зниження кількості ретикулоцитів можливо при а- та гіпопластичних анеміях, нелікованій  $B_{12}$ -дефіцитній анемії, метастазах новоутворень у кістках, аутоімунних захворюваннях системи кровотворення, алкоголізмі, мікседемі, захворюваннях нирок [5, 8, 9].

Ретикулоцити не можливо розрізнити після звичайного фарбування для підрахунку лейкоцитарної формули, проте можуть бути виявлені після прижиттєвого фарбування клітин брильянт-кризил-синім або новим метиленовим синім [11] із подальшою мікроскопією мазків за методом Фоніо: при цьому проводиться підрахунок клітин

зеленувато-блакитного кольору з фіолетово-синьою внутрішньоклітинною зернистою субстанцією в 1000 еритроцитів [12]. Суправітальне фарбування можна здійснювати декількома способами. Перший - це фарбування на склі, коли мазок крові наносять на тонкий мазок фарби і витримують у вологій камері 3-5 хв. Другий - фарбування в пробірці, при цьому кілька крапель крові змішують з рівним об'ємом 1% розчину брильянтового креазилового синього у фізіологічному розчині, витримують 20-30 хв., потім готують мазки [12].

На сучасному етапі все більше уваги приділяється автоматизованому аналізу ретикулоцитів, який відрізняється більшою точністю (досліджуються 30 000 і більше еритроцитів) та відтворюваністю (коефіцієнт варіації становить близько 6%), ніж ручний метод, забезпечує можливість отримання нових показників, що оцінюють ступінь зрілості ретикулоцитів із вимірювання в них вмісту РНК. Відповідно до даних ряду авторів, які проводили співставлення коефіцієнта варіації при порівнянні автоматизованого і ручного методів, показано, що у пацієнтів із ретикулоцитозом близько 9% коефіцієнт варіації для автоматизованого методу становив 5,8%, для ручного методу - 27,2% [4].

У зв'язку з появою високотехнологічних гематологічних аналізаторів стало можливим отримувати, не тільки класичні, але й додаткові інформативні ретикулоцитарні параметри [2, 4, 5, 12, 13].

*Класичні параметри ретикулоцитів:*

- RET% - відносна кількість ретикулоцитів (%);

-RET# - абсолютна кількість ретикулоцитів ( $\times 10^9/\text{л}$ ).

Ретикулоцитопенія - індикатор пригнічення еритропоезу. А нормалізація абсолютної кількості ретикулоцитів є показником відновлення проліферативної активності еритрокаріоцитів.

Ретикулоцитоз із різким збільшенням фракції незрілих ретикулоцитів на фоні активного еритропоезу відображає підвищену регенераторну здатність кісткового мозку. Ретикулоцитоз, що триває, може свідчити про кровотечу, що продовжується.

Хибне підвищення даних параметрів спостерігається при наявності включень в еритроцитах (тільця Жоллі, малярійні паразити), високому лейкоцитозі, аномальних формах гемоглобіну, гіпертромбоцитозі, наявності гігантських форм тромбоцитів.

*Об'ємні параметри ретикулоцитів:*

-MCVR (Mean Cell Volume Reticulocytes) - середній об'єм ретикулоцитів (фл);

- MSRV (Mean Sphered Reticulocyte Volume) - середній об'єм сферичних ретикулоцитів (фл).

Об'ємні показники ретикулоцитів можуть використовуватися в діагностиці залізодефіцитної анемії, моніторингу відповіді на терапію залізовмісними препаратами, фолієвою кислотою, вітаміном В<sub>12</sub>.

Низький об'єм ретикулоцитів пояснює появу мікроцитів у периферичній крові.

Зміна MSRV у спортсменів вказує на зловживання препаратами, що стимулюють еритропоез.

Показники, що характеризують ступінь зрілості ретикулоцитів:

-LFR% - популяція малих зрілих RET (87-99 %);

-MFR% - популяція середніх RET (2-12 %);

-HFR% - популяція великих незрілих RET (1-2 %).

MFR+HFR визначається як фракція незрілих ретикулоцитів - IRF (Immature Reticulocyte Fraction) (2-14%).

Параметр IRF може слугувати індикатором активності еритропоезу. Збільшення IRF свідчить про прискорений викид незрілих клітин з кісткового мозку. А також підвищується значно раніше (як правило, на 2 дні), ніж RET%, і може слугувати найбільш чутливим маркером у моніторингу за станом еритропоетичної активності кісткового мозку та ефективності лікування вітаміном В<sub>12</sub>, фолієвою кислотою препаратами заліза і ЕПО [10].

Зрілі ретикулоцити втрачають РНК в процесі дозрівання в еритроцити в середньому протягом 24 год. При посиленні еритропоезу та продукції ЕПО нирками з кісткового мозку надходять у циркуляцію незрілі ретикулоцити, при цьому період дозрівання їх у крові подовжується і становить від 1,5 до 2,5 днів. Поява незрілих ретикулоцитів у крові відповідає явищу поліхромазії еритроцитів у пофарбованому мазку крові [4]. Ці фізіологічні особливості ретикулоцитів беруться до уваги при розрахунку приладами ретикулоцитарних індексів.

Ретикулоцитарні індекси:

-CRC (Corrected Reticulocyte Count) - скоригований підрахунок ретикулоцитів;

-RPI (Reticulocyte production index) - індекс продукції ретикулоцитів.

У разі зміни тільки гематокриту розраховується CRC за формулою:

$$CRC = RET (\%) \times \frac{Ht}{0,45}, \text{ де}$$

Ht - гематокрит пацієнта;

RET% - кількість ретикулоцитів (%) в крові при даному гематокриті;

0,45 - ідеальний гематокрит.

Якщо у пацієнта одночасно з низьким гематокритом (Ht) у периферичній крові присутні незрілі ретикулоцити (MFR і HFR), то розраховується RPI за формулою:

$$RPI = RET (\%) \times \frac{Ht}{0,45 \times \text{дні циркуляції RET в крові}}$$

Параметр RPI широко варіює залежно від ступеня тяжкості анемії, продукції ЕПО та інших факторів. Зниження даного індексу менше 2,0 вказує на низьку проліферативну активність еритрокаріоцитів.

RPI розраховується при вираженій анемії та/або високому ретикулоцитозі, при яких, як правило, секреція ЕПО підвищена. У пацієнтів з помірно вираженою анемією або низьким вмістом ретикулоцитів важливо відзначити наявність або відсутність поліхромазії в пофарбованому мазку. Так, поліхромазія не спостерігається у більшості хворих із анемією хронічних захворювань, при яких рівень продукції ЕПО знижений і, навпаки, при недостатності кісткового мозку та низькому вмісті ретикулоцитів наявність поліхромазії відображає активну секрецію ЕПО [4].

Розрахунок означених індексів дозволяє надати правильну оцінку характеру еритропоезу, а отже - вибрати адекватну програму лікування пацієнтів.

Найбільш поширеним методом автоматизованого аналізу ретикулоцитів є метод проточної цитометрії. У різних аналізаторах використовуються різні реагенти і принцип вимірювання ретикулоцитів. На підставі принципу проточної цитофлюориметрії в ретикулоцитарному каналі гематологічного аналізатора стає можливим диференціювати ретикулоцити, що флуоресціюють від еритроцитів, що не флуоресціюють (негативних) [4].

За інтенсивністю включення поліметина, що залежить від вмісту РНК в клітині, ретикулоцити поділяють за ступенем зрілості на три популяції: ретикулоцити з низькою, середньою і високою флюоресценцією. Результати відображаються у вигляді скатерограми ретикулоцитарного (RET) каналу. Синій кластер відповідає еритроцитам (RBC), фіолетовий - зрілим Ретикулоцити (LFR), червоний - фракції незрілих ретикулоцитів (MFR + HFR) із середньою (MFR) і високою (HFR) флюоресценцією. Нижній блакитний кластер складають тромбоцити (PLT) (рис. 1) [4].

Для отримання достовірних результатів автоматизованого дослідження ретикулоцитів оптимальні терміни зберігання проб крові при кімнатній температурі не повинні перевищувати 6

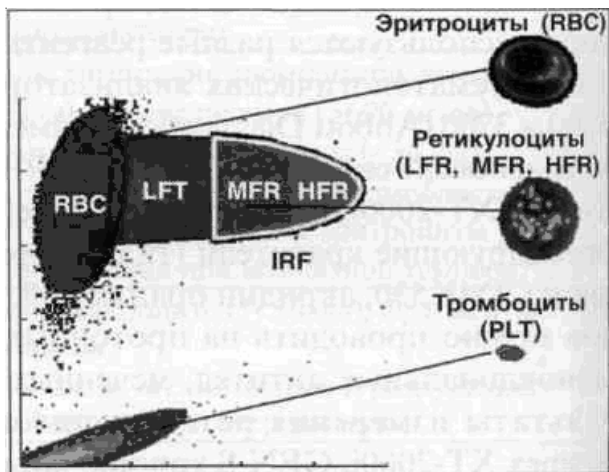


Рис. 1. Схема розподілу клітин у ретикулоцитарному каналі

год. після взяття. При зберіганні проб крові в холодильнику ці терміни збільшуються до 48 год. При зберіганні крові в холодильнику всі показники ретикулоцитів практично не змінюються протягом 48 год. В умовах зберігання крові при кімнатній температурі протягом 2 діб спостерігається тенденція до зниження відносної і абсолютної кількості ретикулоцитів. Показники об'єму клітин зменшуються з 24-ої до 48-ої години зберігання, а фракція незрілих ретикулоцитів і кількість незрілих ретикулоцитів знижуються в проміжку з 6-ої до 24-ої години зберігання [4].

### Висновки

Дослідження параметрів ретикулоцитів у клінічній практиці дуже важливо і необхідно для:

- оцінки активності еритропоезу при станах, що супроводжуються гемолізом або крововтратою;
- детекції порушення регенераторної здатності кісткового мозку при дефіциті заліза, вітамінів  $V_{12}$ ,  $V_6$ , фолатів, міді та моніторингу відповідної терапії;
- оцінки стану еритропоезу на фоні лікування ЕПО;
- оцінки здатності кісткового мозку до регенерації після цитотоксичної терапії та трансплантації кісткового мозку;
- оцінки відновлення синтезу ЕПО після трансплантації нирки;
- допінгового контролю у спортсменів (прийом ЕПО).

### Перспективи подальших досліджень

Будуть продовжені пошуки в наміченому науковому напрямку.

**Література:** 1. Исследование системы крови в клинической практике (Под редакцией Г.И.Козинца и В.А.Макарова). - М.: Триада-Х, 1997. -480с. 2. Гусева С.А. Анемии / С.А.Гусева, Я.П.Гончаров. -К.: Логос, 2004. -408с. 3. Гериатрическая гематология. Заболевания системы крови в старших возрастных группах / Сост. и науч. ред. Л.Д.Гриншпун, А.В.Пивник. - Т.1.- М.: Медіум, 2011.-312 с. 4. Луговская С.А. Лабораторная гематология / С.А.Луговская, В.Т.Морозов, М.Е.Почтарь, В. В. Долгов. -М.: КЛД, 2006. -222 с. 5. Деметьева И. И. Анемии: руководство / И. И. Деметьева, М. А. Чарная, Ю. А. Морозов. -М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013.-304 с. 6. Методы клинических лабораторных исследований / под ред. проф. В.С.Камышникова. -6-е изд., перераб.-М.: МЕДпресс-информ, 2013. -736 с. 7. Сислаб. Руководство по лабораторной гематологии / Б. Сисла; пер. с англ под ред. А. И. Воробьева. - М.: практическая медицина, 2011. -352 с. 8. Назаренко Г. И. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований, 20-е изд., стереотипное / Г.И.Назаренко, А.А.Кишкун.-М.: Медицина, 2006. - 544 с. 9. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В.С. Камышников. -3-е изд.-М.: МЕДпресс-информ, 2009.-896 с. 10. Алексеев Н.А. Анемии / Н.А.Алексеев. - СПб.: Гиппократ, 2004.-512 с. 11. Тэмл Х. Атлас по гематологии / Х.Тэмл, Х.Диам, Т.Хафферлах; пер. с англ.; под общ. ред. проф. В.С.Камышникова. - М.: МЕДпресс-информ, 2010. -208 с. 12. Блиндарь В. Н. Гематологические методы исследования. Клиническое значение показателей крови: Руководство для врачей / В. Н. Блиндарь, Г. Н. Зубрихина, И. И. Матвеева, Н. Е. Кушлинский. -М.: ООО "Издательство "Медицинское информационное агентство", 2013.-96 с. 13. Стуклов Н. И. Анемии. Клиника, диагностика и лечение. Учебное пособие для врачей / Н. И. Стуклов, В. К. Альпидовский, П. П. Огурцов. -М.: ООО "Издательство "Медицинское информационное агентство", 2013. -264 с.

### КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПАРАМЕТРОВ РЕТИКУЛОЦИТОВ

*Л.И. Сергиенко*

**Резюме.** В статье представлены данные о морфологии и физиологии ретикулоцитов. Описаны методы определения количественных и качественных параметров ретикулоцитов, в частности при помощи гематологических анализаторов, а также их клиническое значение.

**Ключевые слова:** ретикулоциты, ретикулоцитарные параметры, клиническое значение.

### CLINICAL SIGNIFICANCE OF DETERMINING OF THE RETICULOCYTES PARAMETERS

*L.I. Sergienko*

**Abstract.** The article presents data on the morphology and physiology of reticulocytes and described methods for determining the parameters of quantity and quality, in particular by means of hematology analyzers. Clinical significance of reticulocytes parameters described.

**Keywords:** reticulocytes, the reticulocyte parameters, clinical significance.

**Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education (Kyiv)**

*Clin. and experim. pathol. - 2015. - Vol.14, №2 (52). -P.188-191.*

*Надійшла до редакції 01.04.2015  
Рецензент – проф. В.Ф. Мислицький  
© Л. І. Сергиенко, 2015*