

На правах рукописи

СТУКЛОВ

Николай Игоревич

**КОМПЬЮТЕРНАЯ МОРФОМЕТРИЯ РЕТИКУЛОЦИТОВ
В НОРМЕ И ПРИ АНЕМИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЯХ**

14.00.29. – гематология и переливание крови

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени кандидата
медицинских наук**

Москва 2004 г.

**Работа выполнена в Государственном учреждении
Гематологическом Научном Центре
Российской Академии Медицинских Наук**

Научный руководитель

Заслуженный деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор
Козинец Геннадий Иванович

Официальные оппоненты:

Доктор медицинских наук, профессор С.А. Луговская

Доктор медицинских наук, профессор Л.Г. Ковалева

Ведущее научное учреждение:

Главный военный клинический госпиталь им. Академика Н.Н. Бурденко
МО РФ.

Защита состоится «___» _____ 2004 г. в «___» часов

на заседании диссертационного совета Д 001.042.01 в

Гематологическом научном центре РАМН, по адресу

125167, Москва, Новозыковский проезд, д. 4а.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Гематологического
Научного Центра РАМН.

Автореферат разослан «___» _____ 2004 г.

Ученый секретарь диссертационного совета, кандидат биологических
наук, старший научный сотрудник Реук Владимир Данилович.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Исследование ретикулоцитов периферической крови получило широкое распространение в гематологической практике. Оно используется в диагностике, классификации и мониторинге лечения анемий.

Основным методом исследования ретикулоцитов является микроскопический, с подсчетом их относительного количества. Указанный метод трудоемок, недостаточно стандартизирован, отличается низкой точностью, субъективностью. Коэффициент вариации ручного метода составляет около 30 %. Низкое содержание ретикулоцитов в крови, большое их разнообразие не позволяет в полной мере провести точную морфологическую оценку их параметров, что необходимо для определения активности эритропоэза. Созданная классификация ретикулоцитов не нашла своего практического применения, а количественная оценка используется лишь для дифференциальной диагностики состояний с выраженным повышением или понижением их числа.

В последнее время широкое распространение получили автоматизированные методы анализа ретикулоцитов, что снизило процент ошибки до 6%. Основными факторами повышения точности являются исследование большого числа эритроцитов и четкое улавливание незначительного количества РНК-содержащих структур в клетках. Современные гематологические анализаторы позволяют получить кроме классических (относительного и абсолютного количества ретикулоцитов) дополнительные показатели, характеризующие клеточный объем и степень зрелости ретикулоцитов.

Эта методика не исключает возможность ложно положительного результата при хроническом лимфолейкозе, других

лимфопролиферативных заболеваниях, при наличии гигантских форм тромбоцитов. Как и при ручном методе, случаи с патологическими включениями в эритроцитах: тельца Хауэлла-Жолли, Гейнца, включения гемоглобина Н, базофильная пунктация, тельца Папенгеймера, и включения при заболевании малярией - дают значительное ложное увеличение числа ретикулоцитов. Таким образом, точность автоматических процедур подсчета ретикулоцитов ограничена большим количеством патологических состояний, при которых надо использовать морфологическую идентификацию ретикулоцитов, что диктует необходимость разработки нового метода изучения ретикулоцитов.

За последнее время принципиально улучшилась техническая база для автоматизированных анализаторов изображения, основанная на принципах анализа клеточного изображения с помощью компьютерной морфометрии. Был создан ряд приборов, позволяющих измерять тонкую структуру клеток крови (Roche Image, SIRES, Autocyte и другие). Существуют и современные отечественные разработки: АСПЕК, МЕКОС, которые используются для подсчета и исследования эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов периферической крови. Однако не имеется в настоящее время опубликованных данных о возможности использования данной технологии для исследования ретикулоцитов.

Все вышеизложенное определяет актуальность проблемы и позволяет обозначить цель и задачи настоящего исследования.

Цель: ретикулоциты периферической крови в норме, оценка их при кровопотере, воздействии хранения, замораживания, анемических состояниях с использованием компьютерной морфометрии.

Задачи исследования:

1. Определить референтные значения морфологических параметров ретикулоцитов в норме.
2. Классифицировать ретикулоциты периферической крови с

помощью компьютерной обработки изображения.

3. Изучить изменения количественного и качественного состава ретикулоцитов периферической крови доноров при проведении различных процедур забора крови.
4. Оценить влияние кровопотери на динамические изменения количества и морфологической структуры ретикулоцитов.
5. Исследовать изменения количества ретикулоцитов при хранении в составе эритроцитарной массы.
6. Изучить влияние низких температур на количественные и качественные показатели ретикулоцитов при криоконсервировании крови.
7. Охарактеризовать ретикулоцитарный состав периферической крови при различных видах анемий: железодефицитная, В-12 дефицитная анемии, анемия при хронической почечной недостаточности.

Практическая значимость полученных результатов. В работе доказана возможность применения компьютерной морфометрии для исследования ретикулоцитов периферической крови. Определены новые параметры ретикулоцитов, такие как площадь клеток, площадь гранул, показана корреляция между этими параметрами, рассчитаны референтные значения в норме. Ретикулоциты классифицированы по площади клеток и по степени созревания в зависимости от площади гранул. Показаны изменения исследованных параметров при различных объемах кроводачи, кровопотери. Найдены закономерности изменения ретикулоцитарного состава у больных с различными анемиями. Полученные данные позволили сделать выводы об изменении эритропоэтической активности костного мозга в зависимости от степени недостаточности кроветворения и выраженности анемии.

Научная новизна работы:

Для исследования ретикулоцитов периферической крови применена методика компьютерной обработки изображения. Данная методика позволила определить новые характеристики ретикулоцитов в норме и показала изменения этих параметров при анемических состояниях различного генеза.

Исследованы влияния различных объемов кровопотери на активность эритронов. Показана возможность применения компьютерной морфометрии для определения количественных и качественных характеристик ретикулоцитов при изменении активности эритропоэза при различных анемиях, что в дальнейшем позволит выработать необходимые диагностические критерии для дифференциальной диагностики анемических состояний, мониторинге эффективности терапии. Данная методика может стать частью исследования гематологических больных.

Положения выносимые на защиту:

1. Для исследования ретикулоцитов применима методика компьютерной морфометрии.
2. Определен коэффициент вариации при количественном подсчете ретикулоцитов, показана его зависимость от количества просчитанных клеток.
3. Определены референтные значения таких параметров ретикулоцитов, как площадь клеток, площадь гранул ретикулоцитов.
4. Показана корреляция ретикулоцитов по размерам и содержанию гранул на плоскости мазка.
5. Создана морфологическая классификация ретикулоцитов с выделением 3 классов по размерам и 3 классов по количеству гранул на основе их морфометрических характеристик.
6. Исследованы динамические изменения количественного и качественного состава ретикулоцитов до и после процедуры забора

крови, определена зависимость их от дозы потерянной крови. Показано влияние препаратов железа на эритропоэз доноров.

7. Описаны изменения в составе ретикулоцитов при хранении и воздействии низких температур.

8. Показаны изменения с использованием компьютерной морфометрии в составе и структуре ретикулоцитов при различных анемиях.

Реализация результатов исследования:

Разработанная методика используется в лаборатории гемцитологии ГУ ГНЦ РАМН для проведения лабораторных и научных исследований.

Проводятся регулярные выступления на кафедре ФППО «Основы клинической трансфузиологии» при Московской медицинской академии им. И.М.Сеченова.

Апробация работы.

Материалы исследований докладывались на Симпозиуме «Национальные дни лабораторной медицины России» (Москва 2002, 2003), на циклах повышения квалификации по специальности «Основы клинической трансфузиологии».

Публикации. По теме диссертации опубликовано 11 печатных работ.

Структура и объем диссертации. Диссертация представлена на 111 страницах. Состоит из четырех глав, выводов, списка литературы. Включает в себя 28 таблиц, 26 рисунков.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ.

Материалы и методы исследования.

Материалом исследования послужили 67 человек от 18 до 76 лет, из них мужчин - 37, женщин - 30; больных различными формами анемии - 21, практически здоровых – 46.

Диагноз анемий различного генеза был установлен на основании клинико-лабораторного исследования больных. Практически здоровые лица обследовались параллельно с больными.

Взятие капиллярной крови для анализа осуществлялось стандартным скарификатором по унифицированной методике в утреннее время суток в пластиковые пробирки для проточного счетчика Cobas Micros 18 OT (ABX - Франция). Пробирки содержали стандартное количество распыленного антикоагулянта K₃ ЭДТА в концентрации 1,5 мг на 1 мл крови.

Пробы крови для биохимического исследования у всех пациентов были взяты из вены натошак с использованием пробирок типа Eppendorf без антикоагулянтов.

Подсчет ретикулоцитов осуществлялся с мазков периферической крови приготовленных по следующей методике:

В 60 мкл капиллярной крови добавлялось 30 мкл красителя бриллиантового крезилового синего фирмы ДИАХИМ и выдерживалось при комнатной температуре в течение 20-25 минут в моноетах. Затем капля крови с красителем объемом 3 мкл наносилась на предметное стекло HEINZ HERENZ размерами 26мм x 76мм x 1мм. с использованием одноканальной пипетки Thermo Labsystems г. Санкт-Петербург. Шлифованное стекло подводилось к капле крови под углом около 25°, и после распределения крови вдоль кромки стекла равномерным движением вперед делался мазок и высушивался на воздухе.

Гематологический анализ осуществлялся на анализаторе Cobas Micros 18 OT (ABX - Франция).

Исследование показателей обмена железа производилось в сыворотке крови пациентов в лаборатории ГНЦ РАМН (заведующая А.А. Левина) колориметрическим методом.

Показатели креатинина и мочевины определялись в сыворотке крови пациентов в клинической лаборатории ГНЦ РАМН (заведующая Т. Ю. Тихонова) на анализаторе ФП – 901 М «Лабсистемс» (Финляндия).

Для компьютерной морфометрии использованы две установки, что существенно расширило возможности количественной и качественной оценки морфологии ретикулоцитов. Прибор МЕКОС - для подсчета относительного количества ретикулоцитов, прибор АСПЕК – для исследования их морфологической структуры.

Алгоритм распознавания клеточного изображения прибора МЕКОС:

1. Ввод изображения в память компьютера.
2. Автоматическое выделение (сегментация) клеток в изображении с последующим контролем со стороны оператора.
3. Формирование галереи клеток.
4. Статистический анализ и представление полученных результатов.

Программная часть прибора АСПЕК для морфометрии:

1. Ручное выделение клеток в изображении.
2. Полуавтоматическое (для эритроцитов) или ручное (для ретикулоцитов) выделение границ клеток, гранул.
3. Формирование каталога клеток.
4. Статистический анализ и представление полученных результатов.

Для количественного подсчета ретикулоцитов использован прибор МЕКОС. Программная часть прибора для морфометрии была разработана сотрудниками кафедры высшей математики РГМУ Соколинским Б.З. и к.ф.-м.н. доцентом Пятницким А.М. Программа состоит из нескольких функциональных частей, объединенных в единый технологический цикл. Алгоритм распознавания клеточного изображения ретикулоцитов адаптирован и улучшен с помощью

морфологических препаратов по подсчету ретикулоцитов (лаборатория гемцитологии ГНЦ РАМН).

С целью исследования внутрисерийной и межсерийной воспроизводимости прибора МЕКОС по подсчету ретикулоцитов исследованы мазки крови практически здоровых 7 мужчин и 7 женщин контрольной группы. Подсчет осуществлялся относительно 1000 эритроцитов, и относительно 2000 эритроцитов. Проводилось 10 измерений в разных местах мазка периферической крови. В дальнейшем все измерения ретикулоцитарных показателей производились относительно 2000 эритроцитов.

Для определения морфометрических показателей ретикулоцитов использован прибор АСПЕК, который является совместной разработкой лаборатории гемцитологии ГУ ГНЦ РАМН и Радиотехнического института им. Академика А.Л. Минца (д.тех.н. Сазонов В.В., Иванова И.А., к.ф-м.н. Верденская Н.В., Виноградов А.Г.)

Для определения референтных морфометрических ретикулоцитарных показателей на анализаторе АСПЕК исследованы мазки крови той же контрольной группы.

Исследовались образцы крови у доноров эритроцитарной массы (8 человек) до и сразу после процедуры кроводачи. Все доноры, и компоненты крови исследовались совместно с СПК ГНЦ РАМН (Орлова Г.К., к.м.н. Шумилова Л.Л.).

При исследовании влияния препаратов железа на активность эритропоэза доноров после однократной кроводачи исследовались две группы людей. Первая (10 человек) - группа контроля. Вторая (10 человек) получала перорально препарат железа «Сорбифер Дурулес», содержащий в каждой таблетке 320 мг сульфата железа (соответствует 100 мг железа) и 60 мг аскорбиновой кислоты, по 2 таблетки в день в

течение 1 недели после кроводачи. Исследования гематологических показателей проводились до, через одну, две и три недели после кроводачи. Работа проводилась совместно с заведующей лабораторией ГНЦ РАМН Левиной А.А.

Влияние двойного эритроцитафереза на показатели эритропоэза доноров (4 чел.) оценивалось по показателям красной крови до, сразу после, через две недели и через месяц после кроводачи. Отбирались доноры весом больше 75 кг, ростом от 176 см, ОЦК = 5 л, гемоглобином более 140г/л. Донорский эритроцитаферез по заготовке двух доз эритроцитов осуществлялся на рефрижераторных центрифугах с использованием сдвоенных мешков 500/300 с раствором антикоагулянта АСD-А. Центрифугирование проводилось в течение 20 мин. 4200 об./мин. при комнатной температуре. Полученные дозы эритроцитов по объему составляли по 250 ± 30 мл. Работа проводилась совместно с отделением экстракорпорального очищения крови ГНЦ РАМН (руководитель д.м.н., профессор Калинин Н.Н.)

При исследовании кровопотери у кроликов проводилось исследование артериальной крови из бедренной артерии после ее перевязки и эксфузии 30 – 60 мл (20 – 40% ОЦК). Оценка показателей красной крови проводилась до, сразу после, через час, через один, два, три дня после кровопотери. Работа проводилась совместно с аспирантом лаборатории патофизиологии крови Скрипкой А.В. (зав. лаб., д.м.н., профессор Горбунова Н.А.)

Исследование ретикулоцитов у 6 больных железодефицитной анемией и 4 больных В-12 дефицитной анемиями было осуществлено после установления диагноза до начала терапии. При обследовании больных железодефицитной анемией была выявлена гипохромная, микроцитарная анемия, снижение уровня сывороточного железа ($4,3 \pm 0,72$ мкмоль/л). Все больные В-12 дефицитной анемией имели

гиперхромную, макроцитарную анемию. У всех была осуществлена стерильная пункция, где были выявлены расширение красного ростка ($46,5 \pm 7,4$ эритрокариоцитов в %) и мегалобластоидный тип кроветворения. У больных этой группы отмечалось низкое количество лейкоцитов $4,15 \pm 0,45$ и тромбоцитопения $102,5 \pm 2,5$, был положительный эффект от применения витамина В-12.

Были проанализированы ретикулоциты 11 пациентов с анемией при хронической почечной недостаточности (6 мужчин, 5 женщин) на фоне терапии рекомбинантным эритропоэтином и проведения системного гемодиализа (аппараты «искусственная почка» фирмы «Fresenius»- 2008 А, 2008 С, 4008 В, 4008 Е, «Gambro»-АК 90, «Bellco» с использованием мембраны из полисульфона, в качестве буфера применялся бикарбонат). В качестве сосудистого доступа использовалась артерио-венозная фистула. Лечение проводилось препаратом РЕКОРМОН (бета-эритропоэтин) фирмы Roche Diagnostics GmbH (Германия). Больные были разделены на две группы. Первая группа (8 человек) – больные хронической почечной недостаточностью в связи с заболеваниями почек (хронический гломерулонефрит, хронический пиелонефрит). Эта группа получала по 2000 МЕ рекомбинантного эритропоэтина подкожно 3 раза в неделю перед сеансом гемодиализа. Вторая группа (3 человека) – больные хронической почечной недостаточностью с лимфопролиферативными заболеваниями (множественная миелома). У всех были выявлены М – градиент, и плазмноклеточная инфильтрация костного мозга. Эти больные получали по 4000 МЕ рекомбинантного эритропоэтина подкожно 3 раза в неделю перед сеансом гемодиализа. Работа проводилась совместно с отделением интенсивной терапии почечной недостаточности и гемодиализа ГНЦ РАМН (руководитель д.м.н. Бирюкова Л.С., к.м.н. Пурло Н.В.).

Исследование ретикулоцитов проводилось в эритроцитарной массе

при хранении при температуре $+4$, $+6^{\circ}\text{C}$ из двух мешков в течение двух недель.

Для изучения влияния ультранизких температур на качественный и количественный состав ретикулоцитов было осуществлено исследование эритроцитов до проведения процедур замораживания, размораживания и отмывания эритроцитов, и сразу после получения готовой трансфузионной среды – размороженных отмывтых эритроцитов (всего 6 мешков). Замораживание проводилось с помощью криоконсерванта ЦНИИГПК 11₅. Материал исследования хранился при температуре минус 196°C в жидком азоте в криогенном хранилище К-1000. Оттаивание производилось в аппарате, заполненном водой при температуре $+45^{\circ}$ в течение 25 секунд. После размораживания производилось трехкратное отмывание эритроцитов с постепенным понижением концентрации растворов.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась методом описательной статистики с использованием программного обеспечения Excel 2000, достоверность определялась по t-критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.

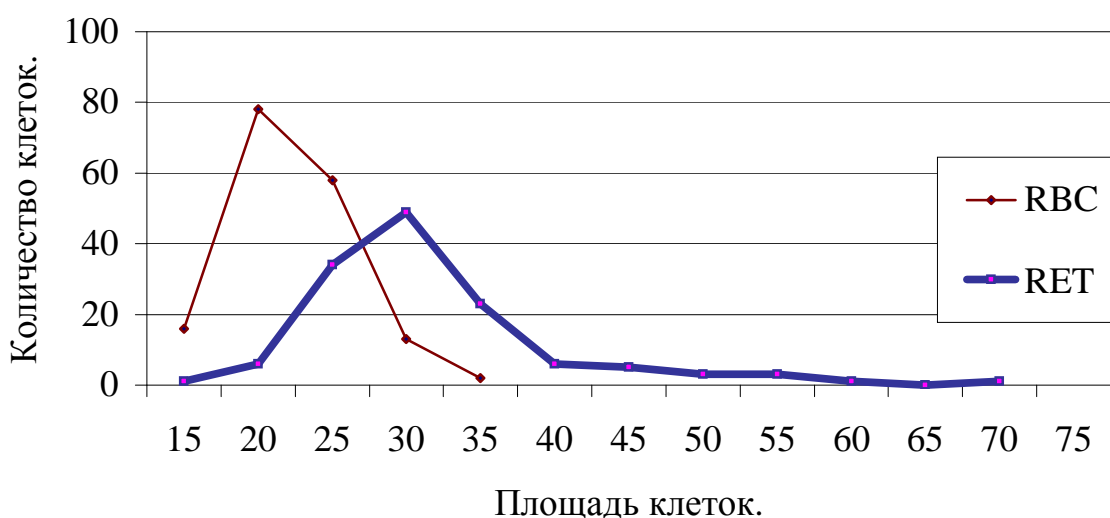
Первоочередной задачей было исследование возможности применения компьютерной морфометрии для количественного подсчета ретикулоцитов в норме.

Средний коэффициент вариации (CV ср.) при подсчете на 1000 клеток составил $30,62 \pm 1,24$, на 2000 эритроцитов CV ср. составил $19,66 \pm 0,84$ ($p < 0,001$). Среднее значение количества ретикулоцитов в «контрольной» группе составило $12 \pm 1,05$ %.

В «контрольной» группе для исследования нормальных морфометрических показателей измерялись площадь ретикулоцитов и площадь гранул ретикулоцитов (135 клеток).

Для сравнения размеров ретикулоцитов (площади) проведено исследование площади эритроцитов с тех же мазков (177 клеток)

При сравнении площадей ретикулоцитов и эритроцитов видно заметное (в среднем на 35%) преобладание площади ретикулоцитов $39,16 \pm 8,19$ мкм², стандартная ошибка (m) = 0,70, над площадью эритроцитов $29,28 \pm 4,44$ мкм², стандартная ошибка (m) = 0,33, $p < 0,001$.



RBC – эритроциты, RET – ретикулоциты.

Рисунок 1. Распределение эритроцитов и ретикулоцитов по площади в мкм².

Для разделения ретикулоцитов на классы в зависимости от площади, за основу был взят интервал $M \pm SD$. Ретикулоциты, по площади лежащие в этом интервале, названы нормоцитарными, имеющие меньшую площадь – микроцитарными, большую – макроцитарными.

Таблица 1. Соотношение форм ретикулоцитов «контрольной» группы по площади в мкм².

Формы	Интервал	Абсолютное количество.	Относительное количество, %
Микроциты, min – (M – SD)	23,05 – 30,97	10	7,4
Нормоциты, M ± SD	30,97 – 47,35	108	80
Макроциты, (M + SD) - max	47,35 – 77,56	17	12,6

Было проведено исследование ретикулоцитов по площади гранул. Измерялась площадь гранул той же выборки «контрольной» группы, среднее значение находится в пределах $3,87 \pm 3,33$ мкм².

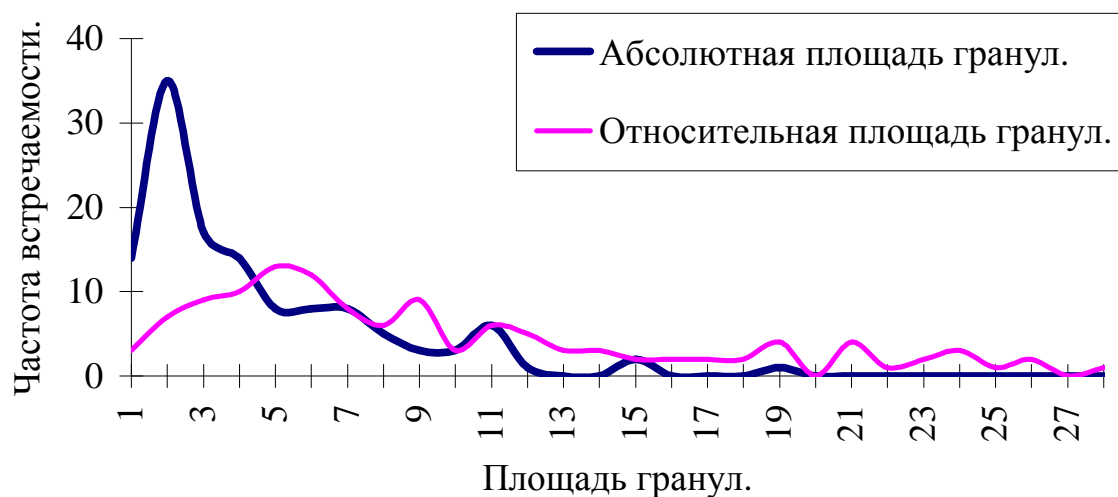


Рисунок 2. Диаграмма распределения ретикулоцитов по абсолютной (мкм²) и относительной (%) площадям гранул.

Таблица 2. Корреляция между площадью ретикулоцитов и площадью гранул.

Показатели	Коэффициент корреляции (r)	Значимость r (tr)	P
S эритроцитов S абс. Гранул	0,28	3,8	p<0,001
S эритроцитов S* относ. гранул	0,08	0,96	p>0,05

S– площадь в мкм², S*– площадь в %.

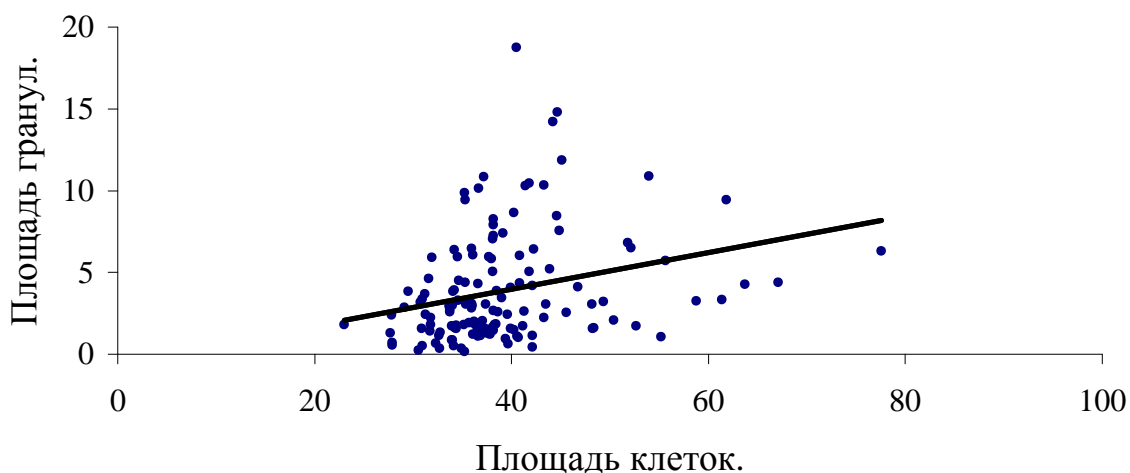


Рисунок 3. Корреляция между площадью ретикулоцитов и площадью гранул в $\mu\text{км}^2$.

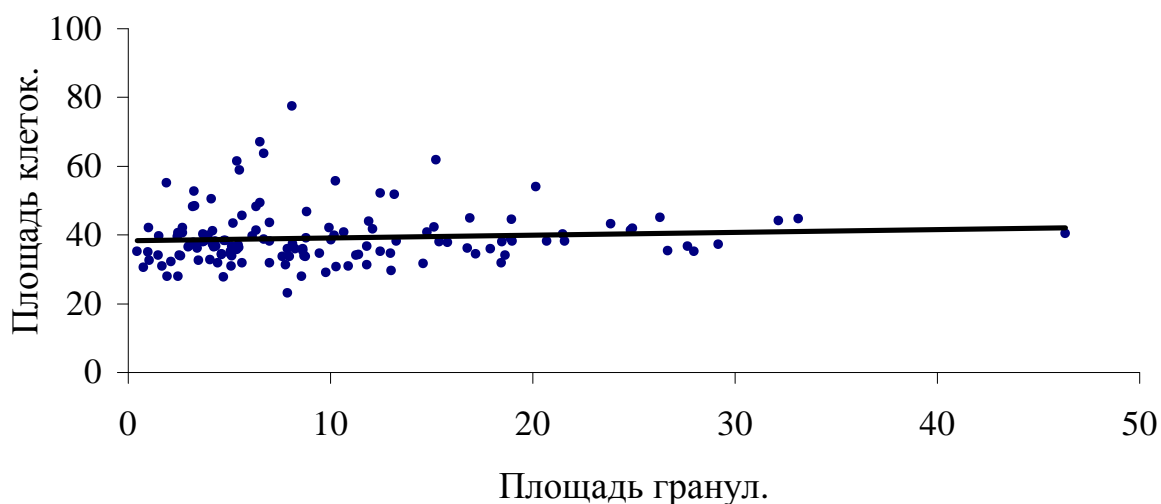


Рисунок 4. Корреляция между площадью ретикулоцитов и площадью гранул в %.

Полученные данные говорят что процессы уменьшения размеров ретикулоцитов при созревании и процессы уменьшения количества РНК в них идут параллельно, что доказывается высокой корреляцией ($p < 0,001$) между площадью ретикулоцитов и абсолютной площадью гранул в них (коэффициент корреляции (r) = 0,28). Отсутствие связи площади ретикулоцитов и относительной площади гранул ($p > 0.05$) доказывает, что концентрация вещества (гранул) уменьшается

медленнее при одновременном уменьшении размера клетки и уменьшении количества гранул ($r = 0,08$).

Ретикулоциты «контрольной» группы были разделены на молодые формы, с абсолютной площадью гранул больше $M + SD$, переходные формы $M \pm SD$, и зрелые – меньше $M - SD$.

Таблица 3. Соотношение форм ретикулоцитов «контрольной» группы по абсолютной площади гранул в $\mu\text{м}^2$.

Формы	Интервал	Абсолютное количество.	Относительное количество, %
Молодые	7,2 - 18,75**	8	5,9
Переходные	0,54 - 7,2	107	79,3
Зрелые	0,15* - 0,54	20	14,8

*- min, ** -max

Для определения изменения параметров красной крови у кадровых доноров после кроводачи сравнили эти показатели с «контрольной группой» и между собой.

Таблица 4 Показатели гемоглобина, эритроцитов и ретикулоцитов до и после кроводачи.

Показатели	До кроводачи			После кроводачи		
	HGB, г/л	RBC, $\times 10^{12}/\text{л}$	RET, ‰	HGB, г/л	RBC, $\times 10^{12}/\text{л}$	RET, ‰
Среднее	143,6	4,03	9,36	139,1	3,84*	9,3
Стандартная ошибка	8,01	0,27	1,1	8,35	0,25	0,96

HGB – гемоглобин, RBC – эритроциты, RET – ретикулоциты, *- $p < 0.05$.

При сравнении показателей гемоглобина, эритроцитов и ретикулоцитов выявлено достоверное снижение количества эритроцитов у доноров после кроводачи по сравнению с нормой ($p < 0,05$) (см. табл. № 16) . Другие показатели не отличались от нормы и между собой, это говорит об отсутствии значимого влияния разовой планируемой

кровопотери в объеме 450 мл на показатели красной крови в первые часы наблюдения. У кадровых доноров были определены количественные и качественные характеристики ретикулоцитов, которые будут изложены в последующих разделах.

При исследовании влияния препаратов железа на динамику показателей красной крови у кадровых доноров, получено, что в течение 3 недель наблюдения в контрольной группе не наблюдалось достоверных изменений ни по показателям красной крови, ни по обмену железа. Однако наблюдается тенденция к снижению гемоглобина с 136 г/л до 130,5 г/л ко второй неделе наблюдения, и повышению количества ретикулоцитов в первые две недели наблюдения с 11,7 ‰ до 15,2 ‰, что говорит о влиянии кровопотери 450 мл крови на динамику показателей эритрона.

Таблица 5. Показатели гемоглобина, эритроцитов, ретикулоцитов и обмена железа у доноров двух групп, в сравнении между собой, до и в динамике после однократной кроводачи.

Показатели	Группы	До	1 неделя	2 недели	3 недели
HGB, г/л	I	136 ± 4,04	133,5 ± 4,60	130,5 ± 4,89	136,5 ± 5,55
	II	137,3 ± 4,85	132,9 ± 3,94	134,5 ± 4,06	135 ± 4,07
RBC, ×10 ¹² /л	I	4,42 ± 0,10	4,41 ± 0,13	4,37 ± 0,14	4,65 ± 0,15
	II	4,48 ± 0,13	4,41 ± 0,11	4,39 ± 0,13	4,57 ± 0,11
RET, ‰	I	11,7 ± 1,26	13,3±1,16**	15,2 ± 1,28	11,8 ± 1,28
	II	11,7 ± 1,37	19,5±1,68**	15,5 ± 0,65	16,0 ± 1,39
СЖ, мкмоль/л.	I	13,5 ± 1,9	15,2 ± 1,6	16,8 ± 2,9	18,0 ± 2,6
	II	15,1± 1,8	16,4 ± 2,4	16,0 ± 1,6	18,2 ± 2,1
ОЖСС, мкмоль/л	I	57,1 ± 3,0	69,7 ± 3,7	68,7 ± 1,7	67,4 ± 2,7*
	II	58,6 ± 1,7	71,7 ± 2,6	71,0 ± 2,3	78,7 ± 2,7*

I – доноры, не принимающие препараты железа. II – доноры, принимающие препараты железа, * - p < 0,05, ** - p < 0,001, СЖ – сывороточное железо (N – 9 – 29 мкмоль/л), ОЖСС – общая железосвязывающая способность (N - 46 – 90 мкмоль/л).

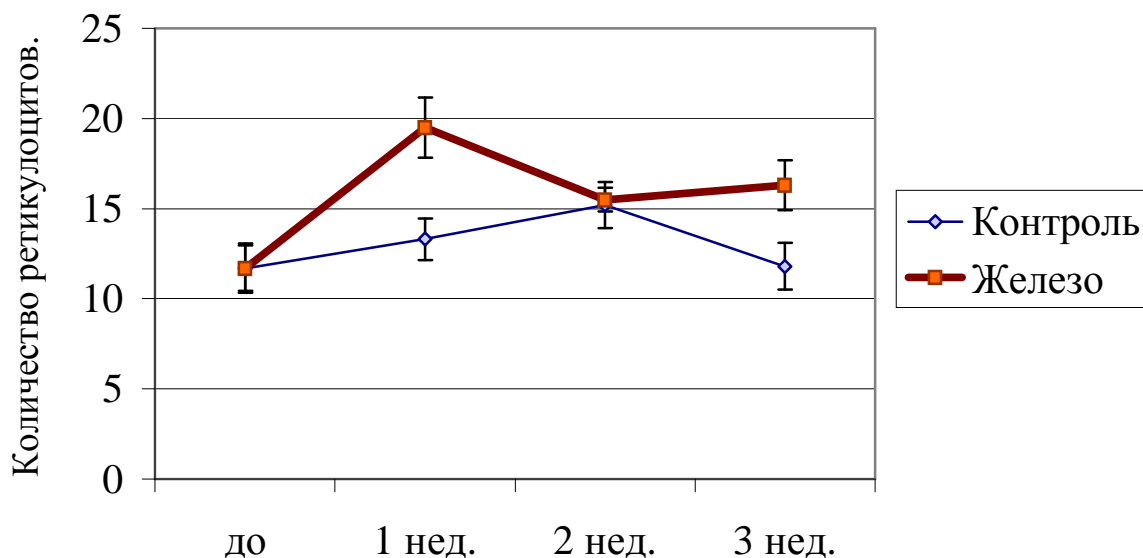


Рисунок 5. Динамика ретикулоцитов в ‰ у доноров контрольной группы и группы принимавшей препараты железа.

В группе, принимающей препараты железа, была тенденция к снижению гемоглобина с 137,2 г/л до 132,9 г/л в первую неделю наблюдения, высоко достоверный подъем количества ретикулоцитов в первую неделю после кроводачи с 11,7 ‰ до 19,5 ‰. Повышение их количества сохранялось в течение всего срока наблюдения (15,5 ‰ – 16,0 ‰). Вероятно повышенная выработка ретикулоцитов, свидетельствующая об активации эритропоэза, обусловила повышенную потребность в железе и, соответственно, подъем уровня ОЖСС ($p < 0,05$).

Группа доноров, принимающих железосодержащие препараты, была изучена по показателям состава и морфологической структуры ретикулоцитов.

Таблица 6. Морфометрические показатели ретикулоцитов доноров, принимающих препараты железа.

Показатели	Значения					
	До кровопотери		Через неделю		Через 3 недели	
	S клетки	S гранул	S клетки	S гранул	S клетки	S гранул
Среднее	33,3	3,03	36,8	4,77	35,2	3,23
Стандартная ошибка	0,71	0,35	0,69	0,55	0,48	0,37
Минимум	23	0,12	26,2	0,44	28,1	0,17
Максимум	46,1	15,93	50,6	22,79	44,1	11,55

S – площадь в мкм².

При сравнении показателей площади клеток «контрольной группы» ($39,16 \pm 0,7$ мкм²) и площади клеток кадровых доноров до кроводачи ($33,3 \pm 0,71$ мкм²) выявлено выраженное ($p < 0,001$) снижение размеров ретикулоцитов, что может свидетельствовать о некотором дефиците железа у кадровых доноров.

Через одну неделю после кроводачи (на фоне приема препаратов железа) отмечается достоверное увеличение размеров (площади) ретикулоцитов $36,8 \pm 0,69$ мкм² по сравнению с первоначальными ($p < 0,001$).

При исследовании площади гранул ретикулоцитов в этой группе доноров ($3,03 \pm 0,35$ мкм²) выявлено не достоверное ($p > 0,05$) уменьшение по сравнению с «контрольной группой» ($3,87 \pm 0,43$ мкм²). Обнаружено увеличение площади гранул ($4,77 \pm 0,35$ мкм²) в ретикулоцитах на первой неделе ($p < 0,001$) наблюдения. Увеличение числа ретикулоцитов, количества РНК (площади гранул) свидетельствует о высвобождении более молодых форм ретикулоцитов после приема препаратов железа, о повышении синтеза РНК в эритрокариocyтах, и соответственно об увеличении синтеза гемоглобина.

На третьей неделе наблюдения морфологическая структура ретикулоцитов изменялась в сторону первоначального, однако, сохранялось увеличение площади, и соответственно размеров ретикулоцитов ($35,2 \pm 0,48 \text{ мкм}^2$), ($p < 0,01$).

Таблица 7. Соотношение форм ретикулоцитов по площади в % на фоне приема препаратов железа.

Формы	Интервал нормальных значений	До кроводачи	1 неделя после	3 недели после
Микроциты, min - M-SD	< 30.97	32	12	10
Нормоциты, M \pm SD	30.97– 47.35	68	86	90
Макроциты, M +SD- max	> 47.35	0	2	0

Таблица 8. Соотношение форм ретикулоцитов по площади гранул в % на фоне приема препаратов железа.

Формы	Интервал нормальных значений	До кроводачи	1 неделя после	3 недели после
Зрелые M +SD- max	< 0,54	7,2	2	11,5
Переходные M \pm SD	0,54 – 7,2	87,4	74	82
Молодые Min - M-SD.	> 7,2	5,4	24	6,5

У кадровых доноров присутствуют выраженные изменения в ретикулоцитарном составе периферической крови. Так, ретикулоцитов большого размера (макроцитов) у доноров 0 %, тогда как в контрольной группе – 12.6 %, количество микроцитов 32% у доноров, что более чем в четыре раза превышает их количество в контрольной группе (7.4 %).

Изменения в площади гранул, то есть в количестве РНК менее значительны.

При изучении соотношения ретикулоцитов по размерам видно, что после приема железа количество микроцитарных форм сократилось с 32 % до 12 % в первую неделю, и в дальнейшем сохранялось низким (10%).

При сравнении соотношения площадей гранул ретикулоцитов получены данные об увеличении клеток с большой площадью гранул, то есть молодых форм с 5,4 % до 24% после приема препаратов железа. Через три недели после кроводачи количество незрелых ретикулоцитов вернулось к первоначальному (6,5 %).

Для изучения воздействия на показатели красной крови, вызванного забором двух доз эритроцитов, исследования проводились до, сразу после, через две недели и через месяц после процедуры.

Таблица 9.

Показатели	До эритроцит-афереза	Сразу после	Через две недели	Через 1 месяц
HGB, г/л	150,5 ± 6,33	126 ± 10,30	142,5 ± 8,45	149,8 ± 7,81
RBC, $\times 10^{12}/л$	4,87 ± 0,13	4,0 ± 0,27	4,7 ± 0,25	4,9 ± 0,10
RET, ‰	15,9 ± 1,64	18,7 ± 3,21	23,1 ± 3,22	14,3 ± 2,74

HGB – гемоглобин, RBC – эритроциты, RET – ретикулоциты.

В данной группе отмечается снижение показателей гемоглобина (в среднем на 25 г/л) и эритроцитов (на 0,8 млн.) сразу после процедуры. Измерялось относительное количество ретикулоцитов. По сравнению с первоначальным уровнем их количество увеличивалось ко 2 недели на 8 ‰ в среднем. К 1 месяцу количество ретикулоцитов возвращалось к первоначальному, однако статистической разницы между этими показателями в динамике не получено.

Таблица 10. Показатели размеров ретикулоцитов и площади гранул в $\mu\text{м}^2$ в динамике до и после проведения двойного эритроцитафереза.

Показатели	До эритроцит-афереза	Сразу после	Через две недели	Через один месяц
Площадь клетки в $\mu\text{м}^2$.	$34,67 \pm 0,75$	$34,2 \pm 0,89$	$35,54 \pm 0,71$	$31,88 \pm 0,54^*$
Площадь гранул в $\mu\text{м}^2$.	$3,68 \pm 0,36$	$3,25 \pm 0,41$	$4,57 \pm 0,56$	$4,18 \pm 0,39$

* $p < 0,01$.

При наблюдении за донорами после двойного эритроцитафереза через один месяц после процедуры отмечается достоверное снижение площади ретикулоцитов ($p < 0,01$), по сравнению с первоначальным, что может являться следствием дефицита железа в связи с увеличенной продукцией эритроцитов. Площадь гранул имела тенденцию к увеличению через 2 недели и 1 месяц после процедуры, вероятно, за счет высвобождения более молодых форм ретикулоцитов.

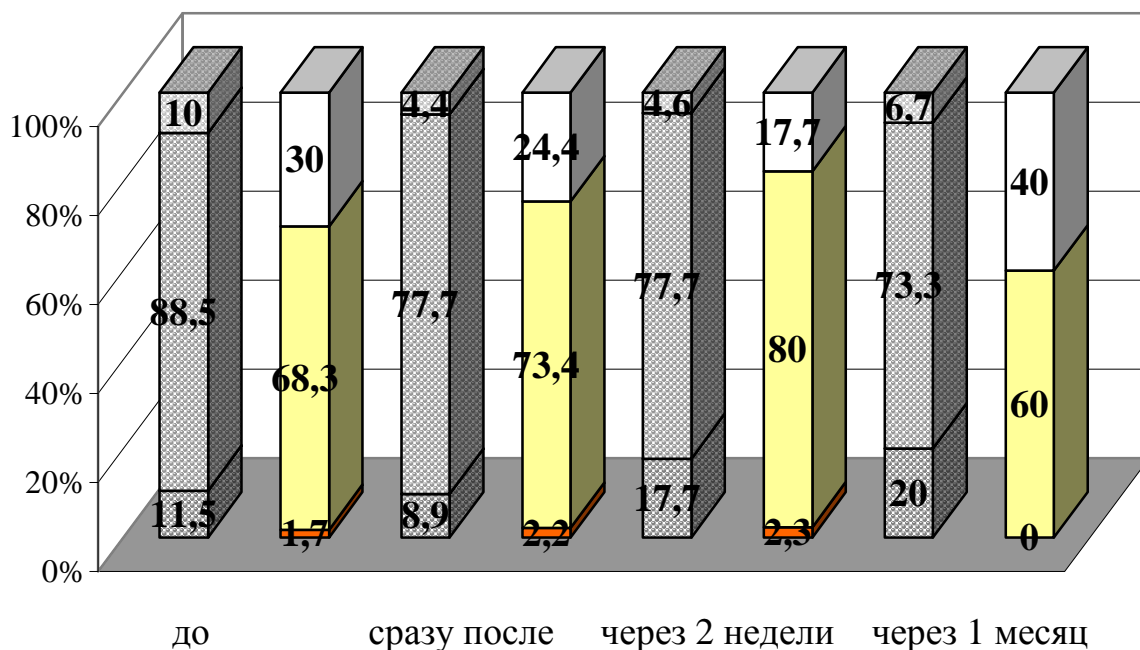


Рисунок 6. Соотношение форм ретикулоцитов по размерам (2, 4, 6, 8 столбцы) и площади гранул (1, 3, 5, 7 столбцы) в динамике до и после двойного эритроцитафереза.

При наблюдении за площадью ретикулоцитов видно, что в течение 2 недель после двойного эритроцитафереза происходит уменьшение процента микроцитарных форм с 30 % до 24,4 % - 17,7 %, а через месяц наблюдается рост микроцитарных форм до 40 %.

В течение всего месяца наблюдения видим постепенный «сдвиг влево», то есть появление большего количества молодых форм ретикулоцитов с 11,5 % до 20 %.

После проведения забора двойной дозы эритроцитов происходит уменьшение размеров ретикулоцитов с одновременным выходом более молодых форм в кровотоки, что говорит о сильном влиянии двойного дискретного эритроцитафереза на ретикулоцитопоез доноров.

Для изучения влияния потери больших объемов крови на ретикулоцитарный состав проведено исследование количества ретикулоцитов у кроликов при кровопускании в объеме от 30 до 60 (20 % - 40 % ОЦК) миллилитров крови.

Таблица 11. Динамика изменения количества ретикулоцитов в ‰ у кроликов после ОМК (острая массивная кровопотеря).

Показатели	До	Сразу после	Через час после	Один день после	Два дня после	Три дня после
Среднее	20,4	14,26	11,98	41,05	36,1	56,2
Стандартная ошибка	0,42	0,27	0,26	1,05	-	-
Динамика		↓	↓	↑	↑	↑
P	-	<0,001	<0,001	<0,001	-	-

При подсчете ретикулоцитов отмечено снижение их относительного количества в первые часы после кровопотери, в дальнейшем с первых суток во всех группах количество ретикулоцитов увеличивалось.

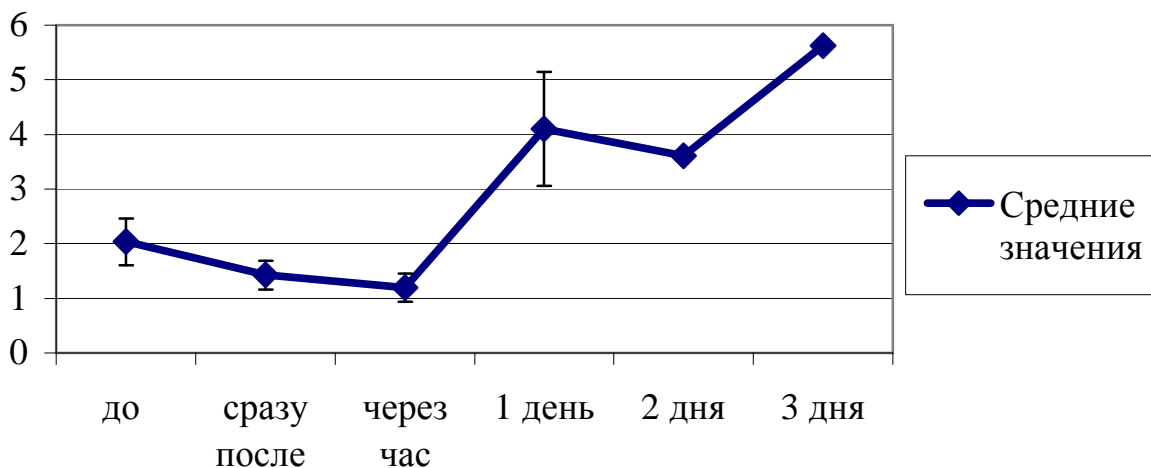


Рисунок 7. Динамика изменения количества ретикулоцитов у кроликов после ОМК в %.

Исследовано в динамике 2 мешка эритроцитарной массы, полученной на СПК ГНЦ РАМН. Анализ проводился в течение 2 недель. Образцы крови хранились в холодильнике при $+4^{\circ}$ + 6° .

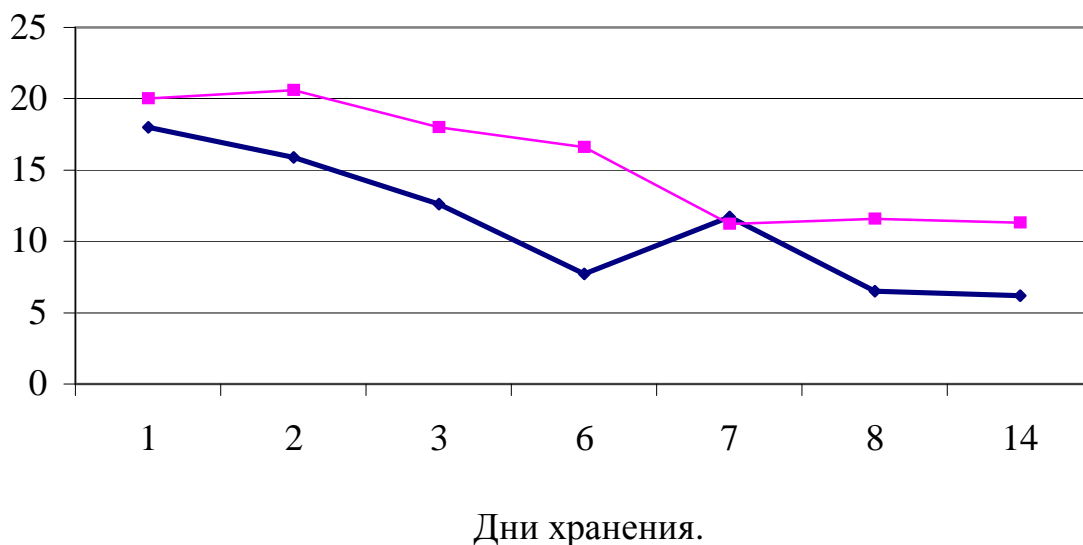


Рисунок 8. Динамика изменения количества ретикулоцитов в ‰ при хранении в двух мешках.

При подсчете ретикулоцитов видно, что в течение двух недель хранения эритроцитарной массы количество ретикулоцитов уменьшается примерно в 2 раза.

Проведена морфометрия ретикулоцитов в первый день хранения, через одну и две недели (температура - $+4^{\circ}$ - $+6^{\circ}\text{C}$).

Таблица 12. Значения показателей площади ретикулоцитов в мкм^2 при хранении при температуре $+4^{\circ}$ - $+6^{\circ}\text{C}$.

Показатели	Площадь ретикулоцитов контрольной группы	Площадь ретикулоцитов при хранении.		
		1 день	7 дней	14 дней
Среднее значение (M), мкм^2	39,16	45,19	45,50	46,04
Стандартное отклонение (SD)	8,19	6,29	5,22	6,38
Min, мкм^2	23,04	29,47	38,42	36,69
Max, мкм^2	77,56	56,98	56,2	57,90

Таблица 13. Характеристика ретикулоцитов «контрольной» группы и при хранении по площади гранул при температуре $+4^{\circ}$ - $+6^{\circ}\text{C}$.

Показатели	Площадь гранул в мкм^2 контрольной группы.	Площадь гранул ретикулоцитов при хранении в мкм^2 .		
		1 день	7 дней	14 дней
Среднее значение (M), мкм^2	3,87	6,72	4,8	3,92
Стандартное отклонение (SD)	3,33	3,76	2,75	2,87
Min, мкм^2	0,15	1,26	0,93	1,10
Max, мкм^2	18,75	14,61	10,25	12,70

При хранении эритроцитарной массы в течение 2 недель не отмечается изменения площади клеток, однако происходит снижение площади гранул с $6,72 \text{ мкм}^2$ до $3,92$ в течение двух недель ($p < 0,05$). Уменьшение количества ретикулоцитов, количества гранул, вероятно связано с процессом созревания.

Для изучения влияния ультранизких температур (-196°C), нами исследованы образцы крови из 6 мешков эритроцитов до и после замораживания и отмывания.

Таблица 14.

Показатели	HGB, г/л	RBC, $\times 10^{12}/\text{л}$	лейк., $\times 10^9/\text{л}$	тромб., $\times 10^9/\text{л}$	RET, ‰
До замораживания	287,5±3,45	8,66±0,05	7,95±0,64	42,5±7,02	16,15±3,1
После размораживания	154±3,76	4,59±0,19	0	0	12,35±1,1

HGB – гемоглобин, RBC – эритроциты, RET – ретикулоциты.

После размораживания из эритроцитарной массы исчезают примеси лейкоцитов и тромбоцитов, однако сохраняются ретикулоциты в том же количестве ($p > 0,05$). Замораживание при ультранизких температурах не приводит к значительному повреждению ретикулоцитов.

Таблица 15. Морфометрические показатели ретикулоцитов в $\mu\text{км}^2$.

Показатели	Площадь ретикулоцитов	Площадь гранул
До замораживания	30,72 ± 0,53	4,33 ± 0,30***
После размораживания	30,23 ± 0,53	2,81 ± 0,22***

***- $p < 0,001$

Нет разницы между площадями клеток до и после замораживания, однако имеется разница в площади гранул. В группе ретикулоцитов после разморозки отмечается статистически достоверное уменьшение площади гранул ($p < 0,001$), что может говорить о разрушении части ретикулярной формации при замораживании.

Исследованы больные железodefицитной и В-12 дефицитной анемиями.

Таблица 16. Сравнительная характеристика больных железodefицитной, В-12 дефицитной анемиями и контрольной группой.

Показатели, $M \pm m$	HGB, г/л	RBC, ($\times 10^{12}/\text{л}$),	MCV, фл	MCH, пг	RET, ‰
Контрольная группа (КГ).	140,6 ± 4.1	4,6 ± 0.16	89,7 ± 1,12	30,3 ± 0.49	12,0 ± 1,05
Железodefицитная анемия	101,8 ± 7,7	4,1 ± 0,3	70 ± 2,5	24,9 ± 1,84	24,5 ± 0,35
Различия от КГ	↓↓	↓↓	↓↓↓	↓	↑↑↑

В-12 дефицитная анемия	80,3 ± 4,18	1,69 ± 0,13	123,3 ± 3,7	45,2 ± 1,66	18,9 ± 0,48
Различия от КГ	↓↓	↓↓↓	↑↑↑	↑↑↑	↑

↓ - уменьшение, ↑ - увеличение, ↓̇ - p < 0,05, ↓̇↓̇ - p < 0,01, ↓̇↓̇↓̇ - p < 0,001

При подсчете ретикулоцитов обнаружено повышение их количества в обеих группах больных, однако при железодефицитной анемии количество ретикулоцитов увеличено значительно более 24,5 % (p < 0,001) по сравнению с нормой, что говорит о регенераторной стадии анемии и увеличенному синтезу ретикулоцитов в ответ на гипоксию. При В-12 дефицитной анемии уровень ретикулоцитов так же достоверно выше нормы 18,9 % (p < 0,05).

Таблица 17. Результаты исследования морфологической структуры ретикулоцитов.

Показатели	Контрольная группа	Железодефицитная анемия	В-12 дефицитная анемия
Площадь клетки в мкм ² .	39,16 ± 0,71**	37,2 ± 1,2	52,6 ± 1,96**
Площадь гранул в мкм ² .	3,87 ± 0,29*	5,49 ± 0,5*	6,11 ± 0,6*

* - p < 0,05, ** - p < 0,01

Установлено, что при железодефицитной анемии достоверно (p < 0,05) увеличивается абсолютная площадь гранул ретикулоцитов по сравнению с контрольной группой, так же имеется тенденция к уменьшению площади ретикулоцитов по сравнению с контрольной группой. Резкое увеличение количества ретикулоцитов в регенераторной стадии происходит за счет более молодых форм и позволяет поддерживать уровень гемоглобина (HGB 101,8 г/л) и эритроцитов (4,1*10¹²/л) на достаточном уровне. В данной стадии средняя площадь ретикулоцитов сохраняется нормальной (37,2 мкм²), по сравнению с контрольной группой (39,16 мкм²).

При В-12 дефицитной анемии наблюдается достоверное увеличение площади ретикулоцитов ($p < 0,01$), и увеличение абсолютной площади гранул ($p < 0,05$). Площадь ретикулоцитов увеличивается как за счет выброса более молодых форм ретикулоцитов в ответ на выраженную анемию (80,3 г/л), что доказывается увеличением площади гранул ретикулоцитов, так и за счет, вероятно, их гиперхромии.

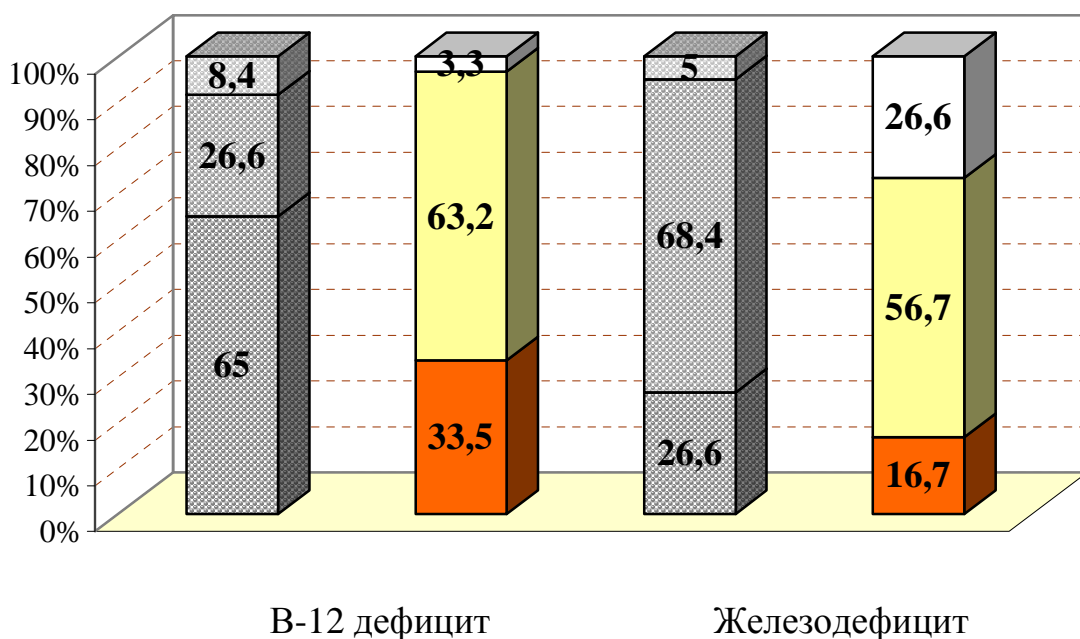


Рисунок 9. Соотношение форм ретикулоцитов по размерам гранул (1,3 столбцы) и по площади (2,4 столбцы) у больных В-12 и железодефицитной анемиями.

При В-12 дефицитной анемии наблюдается резкий «сдвиг влево» до 65% молодых форм, при железодефицитной анемии – 26,6%. Это, возможно, связано со стимуляцией выхода ретикулоцитов из костного мозга под воздействием эндогенного эритропоэтина, вырабатываемого в ответ на гипоксию. При обеих формах анемий, вероятно, происходит нарушение образования ретикулоцитов, их дифференцировка, что является причиной выхода молодых, макроцитарных форм в периферический кровоток: 33,5 % - при В-12 дефиците, 16,7 %.

Микроформ ретикулоцитов в периферической крови больше при железодефицитных анемиях, чем при норме (26,6 %). Анизоцитоз ретикулоцитов при железодефицитной анемии появляется по причине нарушения гемоглобин синтетической функции эритрокариоцитов и ведет к анизоцитозу эритроцитов периферической крови с преобладанием микроцитарных гипохромных форм.

При исследовании больных хронической почечной недостаточностью получены следующие данные.

Таблица 18. Сравнительная характеристика двух групп больных с ХПН.

Показатели	Группа 1	Группа 2
Креатинин (норма 0,04 – 0,18 ммоль/л)	0,7 ± 0,055	0,76 ± 0,58
Мочевина (норма 2,7- 8,8 ммоль/л)	21,04 ± 2,06	22,5 ± 1,75
HGB г/л	120 ± 4,1*	90 ± 5,2*
Эритропоэтин мU/мл	4 ± 2,6	3,9 ± 2,6

* - $p < 0,05$

Первая группа получала процедуры гемодиализа и рекомбинантный эритропоэтин в дозе 2000 МЕ 3 раза в неделю, вторая в дозе 4000 МЕ 3 раза в неделю.

Таблица 19. Количество ретикулоцитов в ‰ группах больных ХПН.

Данные	Группа 1.	Группа 2.
Среднее	27,36	25,03
Стандартное отклонение	8,4	6,03

У первой группы достоверно выше была концентрация гемоглобина, других отличий не найдено. Количество ретикулоцитов в обеих группах достоверно не отличалось. Однако было выше более чем в два раза, по сравнению с «контрольной группой» ($p < 0,001$).

Таблица 20. Сравнение структуры ретикулоцитов у больных ХПН.

Показатели	Группа 1	Группа 2	Контроль
Площадь клетки в мкм ² .	38,58 ± 0,59	38,28 ± 0,76	39,15 ± 0,70
Площадь гранул в мкм ² .	4,74 ± 0,38	4,35 ± 0,53	3,87 ± 0,43

По данным исследования видно, что нет статистической разницы между количественными и качественными характеристиками ретикулоцитов в обеих группах, хотя вторая группа имела поражение костного мозга, статистически достоверное снижение гемоглобина.

Таким образом выявлено влияние рекомбинантного эритропоэтина на количественные показатели ретикулоцитов.

Морфологические особенности ретикулоцитов, выявленные с использованием компьютерной морфометрии окрашенных мазков, отражают даже незначительные изменения эритропоэза, и могут использоваться в дифференциальной диагностике различных изменений и нарушений кроветворения.

Метод компьютерной морфометрии ретикулоцитов доказал свою значимость. Данная методика позволила количественно оценить такие параметры ретикулоцитов, как площадь клетки и площадь гранул. Показано, что данные параметры имеют большое значение для оценки функционального состояния эритропоэза и отражают закономерности изменений при различных анемических состояниях. Новые морфологические показатели ретикулоцитов могут использоваться для более точного исследования патогенеза развития анемий.

ВЫВОДЫ.

1. Компьютерная обработка изображения может быть использована при исследовании количественных и качественных характеристик ретикулоцитов. Данная система более эффективна при работе в интерактивном режиме.
2. Точность исследования количественного состава ретикулоцитов периферической крови зависит от числа просчитанных клеток. Коэффициент вариации при исследовании 2000 эритроцитов у здоровых людей равен 19,6%.
3. Определены референтные значения площади ретикулоцитов и площади содержащихся в них гранул. Показано, что при данной методике приготовления препаратов размеры ретикулоцитов превышают размеры эритроцитов в среднем на 35,0 %.
4. Ретикулоциты периферической крови в норме коррелируют между размерами и площадью гранул ($p < 0,001$). Ретикулоциты классифицированы по своим морфологическим характеристикам на макро-, нормо- и микроцитарные по размерам, а так же на молодые, переходные и зрелые формы по содержанию в них гранул. Определено нормальное их соотношение.
5. Изменения ретикулоцитарного состава периферической крови зависят от объема кроводачи. При заборе одной дозы крови не наблюдается достоверных изменений количества ретикулоцитов. При проведении двойного эритроцитафереза снижается площадь ретикулоцитов ($p < 0,01$). В эксперименте при острой кровопотере у кроликов в объеме 20 % - 40 % отмечается увеличение ретикулоцитов с первого дня наблюдения ($p < 0,001$).
6. При хранении крови при температуре $+4^{\circ}$ $+6^{\circ}$ C отмечается уменьшение количества ретикулоцитов в два раза в течение двух недель, снижение площади их гранул ($p < 0,05$).

Криоконсервирование при температуре -196° С не ведет к снижению количества ретикулоцитов и их площади, однако уменьшается площадь гранул ($p < 0,001$).

- У больных железодефицитной и В-12 дефицитной анемиями увеличены количество ретикулоцитов и площадь их гранул. При В-12 дефицитной анемии наблюдается резкий сдвиг влево до 65,0% молодых форм, при железодефицитной анемии – до 26,6%. При хронической почечной недостаточности количество ретикулоцитов увеличено по сравнению с нормой, однако, нет достоверной разницы между количественными и качественными характеристиками ретикулоцитов в группах больных с первичной патологией почек и с поражением их при множественной миеломе на фоне приема рекомбинантного эритропоэтина.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

1. Козинец Г.И., Левина А.А., Шмаров Д.А., Дягилева О.А., Левина Т.Н., Наумова И.Н., Попова О.В., Стуклов Н.И., Шумилова Л.Л., Орлова Г.К., Погорелов В.М. Железодефицит – реальная опасность. // Русский медицинский журнал. – Т 11. - № 8. - 2003. - с. 464-467.

2. Козинец Г.И., Левина Т.Н., Дягилева О.А., Левина А.А., Шумилова Л.Л., Стуклов Н.И. Влияние препаратов железа на эритропоэз у доноров.// Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии. Сборник материалов. Санкт-Петербург. - 2004. с.- 128.

3. Стуклов Н.И., Козинец Г.И. Ретикулоциты как индикатор полноценности гемопоэза у доноров.// Клиническая лабораторная диагностика. - № 1. - 2002. - с.85.

4. Стуклов Н.И., Козинец Г.И. Гемоглобин и количество

ретикулоцитов у доноров.// Клиническая лабораторная диагностика. - № 9.- 2002. - с. 44-45.

5. Стуклов Н.И., Скрипка А.В., Козинец Г.И. Определение ретикулоцитов при острой массивной кровопотере.// Проблемы гематологии и переливания крови. -№ 1. -2003. с.- 56-57.

6. Стуклов Н.И., Левина Т.Н., Орлова Г.К., Шумилова Л.Л., Козинец Г.И. Оценка донорской кровопотери по показателям гемоглобина, эритроцитов и ретикулоцитов. // Проблемы гематологии и переливания крови. - №2. - 2003. - с. 59.

7. Стуклов Н.И., Козинец Г.И. Анализ изображения ретикулоцитов. // Клиническая лабораторная диагностика.- № 9. - 2003. - с. 29-30.

8. Стуклов Н.И., Козинец Г.И. Ретикулоциты – показатель кровопотери и восстановления эритронов. // Актуальные вопросы экспресс-диагностики в хирургии. Сборник материалов. - 2003. - с. 66-67.

9. Стуклов Н.И., Козинец Г.И. Компьютерная морфометрия ретикулоцитов.// Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии. Сборник материалов. Санкт-Петербург. - 2004. - с. 80.

10. Стуклов Н.И., Козинец Г.И. Подсчет ретикулоцитов у детей и взрослых разных возрастных групп. // Заболевания крови у пожилых людей: диагностика, лечение, особенности иммуносупрессии. Москва. - 2004. - с. 11-14.

11. Стуклов Н.И., Козинец Г.И. Компьютерный анализ изображения ретикулоцитов и эритроцитов здоровых людей. // Клиническая лабораторная диагностика.- № 9. - 2004 - с. 44.

Перечень принятых сокращений.

ЖДА- железодефицитная анемия

ОЦК– объем циркулирующей крови

ОЖСС – общая железосвязывающая способность

пг- пикограмм

РНК- рибонуклеиновая кислота

СЖ – сывороточное железо

фл – фемтолитр

ХПН- хроническая почечная недостаточность

CV – коэффициент вариации

Н RET- фракция молодых ретикулоцитов

М – среднее арифметическое значение

m – средняя ошибка

min – минимальное значение

max – максимальное значение

RBC – эритроциты

RET – ретикулоциты

RET%/ RET # - относительное/ абсолютное количество

ретикулоцитов

r- коэффициент корреляции

SD – стандартное отклонение

S- площадь

t- коэффициент Стьюдента

tr- значимость коэффициента корреляции

‰ – промилле

